

55. Recherches dans la série des cyclites IX.

Sur les cyclohexane-triols-1, 2, 3 et leur oxydation biochimique

par Théodore Posternak et Franco Ravenna.

(24 XII 46)

La théorie prévoit pour un cyclohexane-triol-1,2,3 (I) trois formes stéréo-isomères représentées par les formules II, III et IV. On connaît effectivement trois substances différentes qu'on désigne par les lettres α , β et γ ¹⁾, mais dont la configuration était encore indéterminée. Leur mélange s'obtient par hydrogénation catalytique du pyrogallol; il existe, d'autre part, des méthodes de préparation spéciales pour les triols α et β ²⁾.

*Lindemann et de Lange*³⁾ essayèrent de résoudre de la manière suivante le problème de la configuration des trois triols: la substance répondant à la formule III étant asymétrique devrait se laisser scinder en antipodes optiques IIIa et IIIb, alors que les composés symétriques II et IV sont indédoubleables. *Lindemann et de Lange* tentèrent sans succès ce dédoublement par l'intermédiaire des esters menthyl-carbamiques. Ils constatèrent tout au plus que les menthyl-carbamates des triols α et γ sont des composés homogènes alors que celui du triol β semble représenter un mélange; les auteurs supposèrent, pour cette raison, que le triol β répond à la formule asymétrique III.

Nous nous sommes proposé de résoudre définitivement le problème de la configuration des cyclohexanes-triols-1,2,3. Nous avons d'abord essayé de les condenser avec l'acétone pour établir lesquels des trois composés possèdent des hydroxyles voisins *cis*; mais nos premiers essais échouèrent: les substances résistent à la condensation avec l'acétone, même dans des conditions permettant facilement l'acétonylation du cyclohexane-diol-1,2 *cis*⁴⁾. Ces essais ne furent pas poursuivis car la question put être résolue par une autre voie:

Nous avons soumis les trois triols à l'action de deux bactéries acétiques: 1° *Acetobacter suboxydans Kluyver et de Leeuw*⁵⁾; 2° un micro-organisme encore indéterminé que nous avons retiré d'une «mère de vinaigre», et qui est probablement apparenté à *Bacterium xylinum*. L'action des deux micro-organismes est analogue: les triols

¹⁾ Jusqu'en 1930, on avait décrit 5 cyclohexane-triols-1,2,3 différents. C'est *Lindemann et de Lange*, A. 483, 31 (1930), qui montrèrent lesquels de ces composés représentent véritablement des substances homogènes.

²⁾ *Brunel*, C. r. 150, 986 (1910).

³⁾ Loc. cit.

⁴⁾ Cette difficulté de condensation avec l'acétone a déjà été observée dans le cas d'autres cyclites (inosites, quercite) même lorsque celles-ci contiennent des hydroxyles voisins *cis*.

⁵⁾ Nous remercions vivement M. le Prof. *Kluyver* de l'envoi d'une culture de ce micro-organisme.

β et γ sont attaqués avec formation de substances réductrices, alors que le triol α résiste.

Au cours de recherches en partie inédites, l'un de nous a constaté que, *pour qu'une cyclite soit oxydée par ces deux bactéries acétiques, il faut qu'elle contienne au moins deux hydroxyles voisins cis*. C'est ainsi que le cyclohexane-diol-1,2 *cis* est oxydé avec formation d'une oxy-cyclohexanone lévogyre, alors que la forme *trans* résiste. La scyllite, qui ne possède que des hydroxyles voisins *trans*¹⁾, n'est pas attaquée; d'autres polyols cycliques qui contiennent des hydroxyles voisins *cis* donnent, par contre, des produits d'oxydation: méso-inosite²⁾, épi-inosite³⁾, *l*-inosite, *d*-quercite. En raison de sa résistance à l'oxydation biochimique on peut donc déjà admettre que le triol α a la configuration *trans* IV.

Les produits d'oxydation biochimique des triols β et γ se laissent éliminer par précipitation comme phénylhydrazones; on peut ensuite retirer du liquide de culture une certaine quantité de triol résiduel ayant échappé à l'oxydation. Dans le cas du triol γ on ne trouve qu'une substance optiquement inactive identique au produit de départ. Le produit résiduel du composé β est par contre nettement *lévogyre*; la rotation la plus élevée que nous ayons observée est $[\alpha]_D = -20^\circ$. Cette activation par voie biochimique indique sans autre que le triol β répond à la formule IIIa + IIIb (forme racémique); un des deux antipodes est oxydé par voie biochimique plus rapidement que l'autre. Le triol γ doit alors répondre à la formule II qui est la seule restant disponible.

Le triol résiduel β *lévogyre* dont il vient d'être question contient encore plus de 70 % de forme racémique. On peut l'en débarrasser par l'intermédiaire des dérivés benzoylés, le tribenzoate racémique (p. de f. 182—183°) étant notablement moins soluble dans l'acide acétique ou l'alcool que le dérivé de la forme active; on obtient ainsi le tribenzoate β *lévogyre* pur: $[\alpha]_D$ (CHCl₃) = $-190,8^\circ \pm 3^\circ$; p. de f. 142—143°.

Les produits d'oxydation biochimique des triols β et γ n'ont pas encore été obtenus à l'état cristallin, mais le dérivé du triol γ se laisse isoler facilement sous forme d'une phénylhydrazone bien cristallisée. Cette dernière répond à la formule C₁₂H₁₆O₂N₂ (phénylhydrazone d'une dioxy-cyclohexanone) et est *optiquement active* ($[\alpha]_D$ (alcool) = $+52,4^\circ \pm 2^\circ$); la dioxy-cétone dont elle dérive est donc asymétrique et ne peut représenter que la 2,3-dioxy-cyclohexanone *cis*⁴⁾.

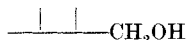
¹⁾ Th. Posternak, Helv. **25**, 746 (1942).

²⁾ Kluyver et Boezardt, R. **58**, 956 (1939); Th. Posternak, Helv. **25**, 746 (1942).

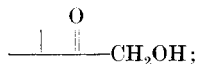
³⁾ Th. Posternak, Helv. **29**, 1991 (1946).

⁴⁾ Dans le cas de la méso-inosite, par contre, l'oxydation biochimique s'effectue au centre d'un groupe de trois hydroxyles voisins *cis* (Helv. **25**, 746 (1942)).

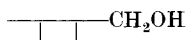
Hann, Tilden et Hudson¹⁾ ont étudié la spécificité stéréochimique de l'oxydation de quelques polyalcools à chaîne ouverte par *Acetobacter suboxydans*. Restreignant la règle classique de *Bertrand*, ils montrèrent que le micro-organisme s'attaque au groupe



(dont le modèle dans l'espace contient deux hydroxyles voisins *cis*) en l'oxydant en



le groupement de configuration inverse



est par contre beaucoup plus résistant. Il nous paraît probable que cette règle s'applique également à l'oxydation des cyclites; nous attribuons ainsi à notre 2,3-dioxy-cyclohexanone *cis* la formule de configuration VII conforme à la règle de *Hudson*.

La dioxy-cétone VII (produit brut) est dextrogyre; elle est assez instable: elle se conserve en solution diluée dans le liquide de culture, mais elle subit, par contre, lorsqu'on cherche à l'isoler une altération rapide se traduisant par la perte du pouvoir réducteur; c'est notamment le cas lorsqu'on la libère par hydrolyse de sa phénylhydrazone. Nous avons pu toutefois étudier certaines de ses réactions en nous adressant au liquide de culture lui-même. Si l'on hydrogène celui-ci en présence d'oxyde de platine en solution neutre, on ne peut retirer que du triol γ . L'hydrogénation par l'amalgame de sodium en milieu acide fournit, par contre, à côté de triol γ , la forme *dextrogyre* du triol β . Ici encore la séparation a été effectuée par l'intermédiaire des dérivés benzoylés, le tribenzoate β dextrogyre ($[\alpha]_D$ (CHCl_3) = $+192,5^\circ \pm 1^\circ$; p. de f. $142\text{--}143^\circ$) étant moins soluble dans l'acide acétique que le dérivé du triol γ . Par saponification au moyen de la baryte, on obtient finalement le triol β dextrogyre pur ($[\alpha]_D$ (eau) = $+70,6^\circ \pm 2^\circ$; p. de f. $134\text{--}135^\circ$). Cette transformation de la dioxy-cyclohexanone VII en triol β optiquement actif est une confirmation des formules que nous attribuons à ces substances. Etant donné la formule de configuration VII, le triol β dextrogyre doit être représenté par la formule IIIa; c'est lui que nos bactéries oxydent plus facilement que son antipode.

Si l'on réduit le liquide de culture en présence d'oxyde de platine en milieu fortement acide (H_2SO_4 à 10 %) la consommation d'hydrogène est environ le double de celle qu'on observe en milieu neutre. Par extraction à l'éther on isole ensuite une certaine quantité de

¹⁾ Am. Soc. **60**, 1201 (1938).

cyclohexane-diol-1,2 *cis* VIII. Suivant une réaction que nous avons déjà utilisée dans la série des cyclites¹⁾, le groupe carbonyle est ainsi remplacé par un groupe méthylène.

Nous avons encore étudié, avec la collaboration de Mlle Y. *Praxmarer*, la cinétique de l'oxydation des trois cyclohexane-triols par l'acide periodique et le tétra-acétate de plomb. Le triol γ (II) contenant trois hydroxyles voisins *cis* devrait être oxydé plus rapidement que le triol β (III) qui n'en contient que deux; celui-ci devrait, par contre, être attaqué plus facilement que le triol α (IV). Nos mesures montrent que tel est bien le cas.

Faisons remarquer que les configurations que nous avons établies sont en accord avec certains modes de préparation des triols α et β . Un dérivé mono-éthylé du triol β se prépare en effet par oxydation permanganique du 3-éthoxy-cyclohexène-(1)²⁾, ce qui explique bien la présence chez ce triol de deux hydroxyles voisins *cis*. D'autre part, un mélange des dérivés éthylés des triols α et β s'obtient par hydrolyse du 3-éthoxy-1,2-oxydo-cyclohexane³⁾; or on sait que l'hydrolyse d'un oxyde d'éthylène entraîne généralement l'apparition d'hydroxyles voisins *trans* qui existent effectivement chez les triols α et β .

Si l'on oxyde le triol γ par le brome en présence de carbonate de sodium, on obtient une solution fortement réductrice; par l'intermédiaire de sa phénylhydrazone cristallisée on peut en isoler une dioxy-cyclohexanone $C_6H_{10}O_3$, cristallisée également, qui est beaucoup plus stable que la substance VII. Le produit a un p. de f. variable; on sait que la 2-oxy-cyclohexanone a la même propriété, ce que *Bergmann* et *Gierth*³⁾ expliquent par la présence d'un mélange en proportions variables de forme cétonique et de semi-acétal. L'hydrogénation en présence d'oxyde de platine en milieu neutre ou par l'amalgame de sodium en milieu acide ne nous a fourni que du triol γ . L'hydrogénation en présence d'oxyde de platine en solution acide (H_2SO_4) permet ici encore l'élimination du groupe carbonyle; nous avons obtenu ainsi du cyclohexane-diol-1,3 *cis* V. Cette dernière réaction montre que la nouvelle dioxy-cétone représente la 2,6-dioxy-cyclohexanone *cis* VI. On sait que la glycérine est oxydée elle-aussi d'une manière symétrique par l'hypobromite avec formation principalement de dioxyacétone.

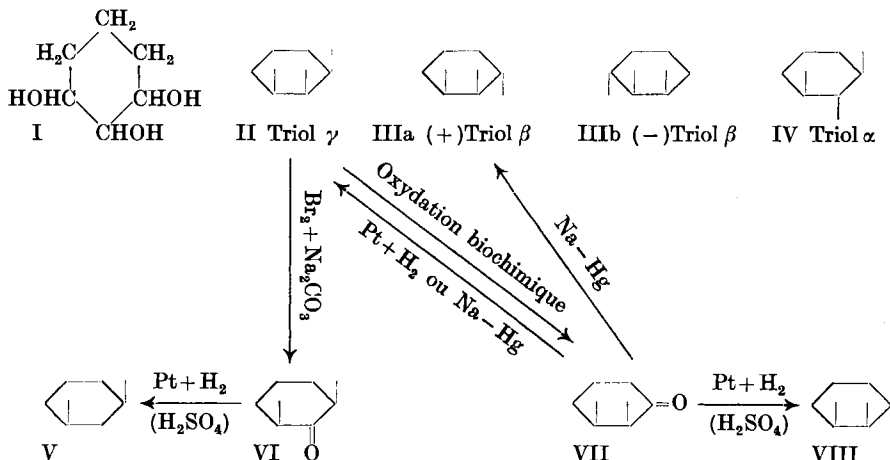
D'après les essais qu'a bien voulu effectuer M. le Prof. W. *Schofer* auquel nous adressons tous nos remerciements, les trois triols sont, dans les conditions de culture utilisées, sans action sur deux micro-

¹⁾ *Th. Posternak*, *Helv.* **24**, 1045 (1941).

²⁾ *Brunel*, *C. r.* **150**, 986 (1910).

³⁾ *A.* **448**, 48 (1926).

organismes¹⁾ ayant besoin de méso-inosite comme facteur de croissance vitaminique.



Partie expérimentale.

Préparation des cyclohexane-triols-1,2,3.

Les triols α (p. de f. 105°) et β (p. de f. 124°) ont été préparés à partir du 3-éthoxy-cyclohexène-(1) d'après les indications de Brunel²⁾.

Le triol γ a été retiré, d'après Lindemann et de Lange³⁾, du mélange obtenu par hydrogénation catalytique du pyrogallol. Les auteurs cités avaient employé un catalyseur mixte (Ni, Co, Cu) sans en indiquer d'ailleurs la préparation ni la composition. Nous avons utilisé le catalyseur au nickel sur support de porcelaine poreuse préparé d'après Rupe⁴⁾ (46 gr.), ou encore le nickel de Raney obtenu à partir de 26 gr. d'alliage à 50%, pour hydrogéner 40 gr. de pyrogallol dissous dans 60 cm³ d'eau (autoclave tournant; pression initiale d'hydrogène: 100—130 atm.). Au bout de 8—9 heures de chauffe à 130°, l'hydrogénation est terminée. L'isolement du triol γ (p. de f. 147—148°) a été effectué d'après Lindemann et de Lange; les rendements les plus élevés (11%) ont été obtenus au moyen du catalyseur de Rupe.

Modes opératoires des oxydations biochimiques.

Les oxydations au moyen d'*Acetobacter suboxydans* ont été effectuées de la manière suivante:

On opère dans des erlenmeyers de 100 cm³ contenant 0,6 gr. de triol, 50 mgr. de sorbite et 25 cm³ d'eau de levure qu'on obtient en traitant 5 minutes à l'ébullition une partie de levure pressée de boulanger par 10 parties d'eau du robinet, puis en filtrant. On stérilise 15 minutes à 115°, inocule après refroidissement et laisse à l'étuve à 29°.

¹⁾ Rhizopus suinus Nielsen (W. H. Schopfer, Z. Vitaminf. **16**, 195 (1945)) et Eremothecium Ashbyii Guillemond.

²⁾ C. r. **150**, 986 (1910).

³⁾ A. **483**, 31 (1930).

⁴⁾ Helv. **1**, 453 (1918).

Nous avons d'autre part un micro-organisme retiré d'une «mère de vinaigre»¹⁾ et ressemblant à *Bacterium xylinum* par sa propriété de former d'épaisses couches mucilagineuses sur le liquide de culture. Nous le désignons comme «micro-organisme II». Le milieu employé pour les oxydations était en principe celui qu'indique *Reichstein*²⁾.

On introduit dans des erlenmeyers de 100 cm³ munis de bouchons de coton 0,6 gr. de triol, 50 mgr. de sorbite et 25 cm³ d'un mélange de composition suivante: 600 cm³ d'eau de levure + 160 cm³ d'eau du robinet + 32 cm³ de vin rouge + 8 cm³ d'acide acétique glacial. On chauffe 5 minutes à l'ébullition, inocule après refroidissement et laisse à l'étuve à 29°.

Oxydation biochimique du cyclohexane-triol γ .

Acetobacter suboxydans ainsi que le micro-organisme II se développent facilement en présence de triol γ . Les actions biochimiques sur ce triol des deux espèces de bactéries se sont d'ailleurs montrées tout à fait analogues.

Au bout de 15—20 jours de culture, le liquide qui réduit fortement la liqueur de *Fehling* à froid est filtré sur une couche de norite. Il est assez fortement dextrogyre: une solution d'un volume de 15 cm³ résultant de l'oxydation de 0,3 gr. de triol γ par *A. suboxydans* a donné (tube de 2 dm.): $\alpha_D = +1,48^\circ$.

L'évaporation à sec, même à basse température, du liquide de culture amène une diminution rapide du pouvoir réducteur; il en est de même lorsqu'on cherche à extraire la substance réductrice par des dissolvants.

Phénylhydrazone de la 2,3-dioxy-cyclohexanone cis VII.

Le liquide de culture filtré est concentré dans le vide environ au quart. On l'additionne d'un tiers de volume d'un mélange d'une partie de phénylhydrazine et de deux parties d'acide acétique à 50%. Il se forme rapidement un précipité cristallin qu'on essore au bout de trois heures de repos à la glacière et qu'on lave soigneusement à l'eau. À partir de 1,8 gr. de triol γ on obtient jusqu'à 2,4 gr. de phénylhydrazone brute. Pour recrystalliser le produit on le dissout rapidement dans trois parties d'alcool bouillant, refroidit immédiatement et abandonne deux heures à la glacière; on essore et lave à l'éther anhydre dépourvu de peroxyde. Il importe de ne pas laisser les cristaux trop longtemps au contact de leur solution-mère sinon ils se résinifient rapidement. Feuilletts incolores qui, fraîchement préparés, fondent à 146—147°. La substance est assez instable, même à l'état sec: elle se colore rapidement en brun et finit par se résinifier.

3,420 mgr. subst. ont donné 8,185 mgr. CO₂ et 2,220 mgr. H₂O

3,480 mgr. subst. ont donné 0,402 cm³ N₂ (23°, 737 mm)

C₁₂H₁₈O₂N₂ Calculé C 65,41 H 7,33 N 12,73%

Trouvé „ 65,27 „ 7,26 „ 12,92%

$c = 0,573$ (alcool); $l = 2$ dm; $\alpha_D = +0,60^\circ \pm 0,02^\circ$; $[\alpha]_D^{21} = 52,4^\circ \pm 2^\circ$

Si l'on décompose la phénylhydrazone de la manière habituelle en chauffant à l'ébullition en présence d'eau, de benzaldéhyde et d'un peu d'acide benzoïque on obtient une solution réductrice dextrogyre: le liquide (12 cm³) provenant de l'hydrolyse de 0,5 gr. de phénylhydrazone a donné $\alpha_D = +0,77^\circ \pm 0,02^\circ$ ($l = 2$ dm). Par évaporation à sec à basse température, le pouvoir réducteur diminue encore; le résidu sirupeux traité par la phénylhydrazine fournit essentiellement un précipité amorphe à côté d'un peu de phénylhydrazone cristallisée. On n'obtient pas de meilleurs résultats en cherchant à isoler la substance par agitation de la solution aqueuse avec des dissolvants organiques.

¹⁾ Cette «mère de vinaigre» nous a été gracieusement fournie par la *Vinaigrerie de Grange-Canal* (Genève).

²⁾ *Helv.* 17, 998 (1934).

Triol résiduel de l'oxydation biochimique du triol γ .

La solution-mère aqueuse de la phénylhydrazone obtenue après oxydation de 1,8 gr. de triol γ par A. suboxydants, est alcalinisée à la baryte et filtrée. On extrait à l'éther pour éliminer la majeure partie de la phénylhydrazine, précipite ensuite les ions Ba^{++} par la quantité nécessaire d'acide sulfurique et concentre à un petit volume. Après neutralisation à l'ammoniaque, on précipite par le sous-acétate de plomb, filtre et débarrasse le filtrat des ions Pb^{++} par un courant d'hydrogène sulfuré. Après évaporation à sec, on épuise le résidu par l'éther acétique bouillant. Le produit extrait (0,44 gr.) consiste exclusivement en triol γ optiquement inactif. P. de f. (après recristallisation dans l'éther acétique): 145—147°; il en est de même du p. de f. du mélange avec un échantillon authentique.

*Hydrogénations catalytiques de la 2,3-dioxy-cyclohexanone cis VII.**Hydrogénation en milieu neutre.*

Le liquide de culture (25 cm³) résultant de l'oxydation de 0,6 gr. de triol γ par Acetobacter suboxydants est neutralisé (tournesol) à l'ammoniaque. On hydrogène en présence de 150 mgr. d'oxyde de platine. Consommé 115 cm³ H₂ (20°, 697 mm.), ce qui correspond à l'hydrogénation de 0,42 gr. de dioxy-cyclohexanone. La même quantité de liquide de culture aurait fourni 700 mgr. de phénylhydrazone, soit 98% de la quantité établie par l'hydrogénation catalytique. On essore le platine, évapore à sec et épuise le résidu par l'éther acétique bouillant. On extrait ainsi 380 mgr. de produit cristallisé consistant essentiellement en triol γ ; p. de f. (après recristallisation dans l'éther acétique) et p. de f. de mélange: 145—147°.

Hydrogénation en milieu acide.

5 cm³ d'un liquide de culture identique à celui employé dans l'essai précédent sont additionnés de 0,5 gr. de H₂SO₄ concentré. On hydrogène en présence de 30 mgr. d'oxyde de platine. Consommé 39 cm³ H₂ (19°, 701 mm.). Après avoir essoré le platine, on épuise le liquide durant 20 h. à l'éther dans un appareil à extraction continue. Après essorage d'un peu de triol γ qui s'est séparé dans l'extrait étheré, on sèche celui-ci sur du sulfate de sodium anhydre et évapore à sec. Le résidu est repris par un peu d'éther pour séparer d'un reste de triol γ . La fraction facilement soluble dans l'éther cristallise à la longue; on la presse sur une plaque poreuse et recristallise par dissolution dans l'éther acétique suivie d'addition d'éther de pétrole. Tablettes fondant à 99—101°; il en est de même du p. de f. du mélange avec un échantillon authentique de cyclohexane-diol-1,2 *cis*.

*Hydrogénation par l'amalgame de sodium de la 2,3-dioxy-cyclohexanone cis VII.**Préparation du tribenzoate de (+)-cyclohexane-triol-1,2,3 β .*

Le liquide de culture obtenu par oxydation au moyen de A. suboxydants de 0,56 gr. de triol γ est additionné de 5 cm³ de H₂SO₄ n et agité avec 4 gr. d'amalgame de sodium à 2,5%; on répète 9 fois cette opération en ayant soin de maintenir la solution constamment acide par addition de H₂SO₄ n. Le liquide, qui ne réduit plus la liqueur de Fehling, est neutralisé à la phénolphthaléine par la soude caustique; on évapore à sec dans le vide et dessèche soigneusement le résidu qu'on extrait ensuite à l'alcool absolu bouillant. La solution alcoolique est évaporée à sec et le résidu est épuisé à l'éther acétique bouillant. Après évaporation de l'éther acétique il reste un résidu presque entièrement cristallisé (300 mgr.). On le redissout à chaud, dans 10 cm³ d'éther acétique; par refroidissement il se sépare d'abord des fines aiguilles puis des prismes trapus. Sans attendre l'apparition de ces derniers, on essore les fines aiguilles (56 mgr.) qui sont constituées essentiellement par du triol γ . Le résidu obtenu par évaporation de la solution-mère acétique fond à 115—124°

et consiste en triol β dextrogyre accompagné de triol γ . La purification a été réalisée par l'intermédiaire des dérivés benzoylés. Le mélange dissous dans 8 parties de pyridine anhydre est benzoylé par le chlorure de benzoyle dans les conditions habituelles. Au bout de 15 h. on isole le produit benzoylé en versant dans l'eau et on le recrystallise d'abord dans 10 parties d'alcool absolu, puis à plusieurs reprises dans l'acide acétique glacial (3 parties); on obtient finalement de gros prismes (0,22 gr.) fondant à 142—143°; le mélange avec le tribenzoate γ (p. de f. 140—142°) fond vers 125°.

$c = 1,01$ (CHCl_3); $l = 2$ dm; $\alpha_D^{20} = +3,89^\circ \pm 0,02^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = +192,5^\circ \pm 1^\circ$

3,320 mgr. subst. ont donné 8,910 mgr. CO_2 et 1,600 mgr. H_2O

$\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{O}_6$ Calculé C 72,94 H 5,45%

Trouvé „ 73,19 „ 5,39%

(+)-Cyclohexane-triol-1,2,3 β IIIa.

0,192 gr. du tribenzoate précédent sont dissous dans 4 cm^3 d'alcool absolu; on ajoute 4 cm^3 d'une solution méthylalcoolique de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 1,11-n; après 5 min. d'ébullition, on laisse reposer 2 h. à température ordinaire et additionne de quelques volumes d'eau ce qui amène la dissolution complète du précipité formé. On élimine les ions Ba^{++} par la quantité strictement nécessaire d'acide sulfurique, essore l'acide benzoïque séparé et évapore à sec. Le résidu est débarrassé par lavage à l'éther de l'acide benzoïque qui l'accompagne encore; on obtient ainsi 55 mgr. fondant à 132—134°. Par recrystallisation dans l'éther acétique, il se sépare des tablettes épaisses fondant à 134—135°.

$c = 0,425$ (eau); $l = 2$ dm; $\alpha_D^{20} = +0,60^\circ \pm 0,02^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = +70,6^\circ \pm 2^\circ$

3,305 mgr. subst. ont donné 6,605 mgr. CO_2 et 2,620 mgr. H_2O

$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_3$ Calculé C 54,50 H 9,16%

Trouvé „ 54,50 „ 8,87%

Traité par le chlorure de benzoyle en solution pyridique, le produit régénère presque quantitativement le tribenzoate de p. de f. 142—143°.

Oxydation biochimique du d,l-cyclohexane-triol-1,2,3 β .

Isolement du triol résiduel lévogyre IIIb.

L'oxydation du triol β a été effectuée au moyen de nos deux micro-organismes. Au bout de 20 jours, le liquide de culture est traité comme nous l'avons indiqué dans le cas du triol γ . Le produit d'oxydation précipité sous forme de phénylhydrazone amorphe et le triol résiduel est isolé du filtrat de la manière décrite plus haut à propos du triol γ . Lorsque l'oxydation a été effectuée par A. suboxydans, la quantité de substance résiduelle représente 20% du triol γ mis en œuvre; $[\alpha]_D = -20^\circ$. L'oxydation par le micro-organisme II a donné 50% de triol résiduel; $[\alpha]_D = -13^\circ$.

Le produit qui contient encore une forte quantité de forme racémique est purifié par l'intermédiaire des dérivés benzoylés; on le traite 15 h. en solution pyridinique anhydre par le chlorure de benzoyle dans les conditions habituelles. Après précipitation par l'eau, la substance est débarrassée, par digestion avec 5 parties d'alcool absolu, de l'acide benzoïque entraîné. Le produit non dissous par l'alcool est recrystallisé à plusieurs reprises dans l'acide acétique glacial (7 parties); on obtient ainsi du tribenzoate β racémique fondant à 182—183°, qu'on a identifié par le p. de f. du mélange avec un échantillon authentique ($[\alpha]_D$ (CHCl_3) = 0°). La première solution-mère acétique est diluée de plusieurs volumes d'eau; le précipité formé fournit, par une seule recrystallisation dans l'alcool, du tribenzoate β lévogyre pur; p. de f. 142—143°.

$c = 0,393$ (CHCl_3); $l = 2$ dm; $\alpha_D^{21} = -1,50^\circ \pm 0,02^\circ$; $[\alpha]_D^{21} = -190,8^\circ \pm 3^\circ$

3,810 mgr. subst. ont donné 10,180 mgr. CO_2 et 1,850 mgr. H_2O

$\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{O}_6$ Calculé C 72,94 H 5,45%

Trouvé „ 72,87 „ 5,43%

Préparation du tribenzoate de d,l-triol β . Un mélange de 7 mgr. de tribenzoate β lévogyre (p. de f. 142—143°) et de 7 mgr. de tribenzoate β dextrogyre (p. de f. 142—143°) est recristallisé dans 0,1 cm³ d'acide acétique glacial; il se sépare 13 mgr. de tribenzoate racémique fondant à 182—183°; le mélange avec un produit préparé par benzylation directe du d,l-triol β fond à la même température.

*Oxydations par l'acide periodique et le tétra-acétate de plomb
(en collaboration avec Mlle Y. Praxmarer).*

Oxydation par l'acide periodique¹⁾.

On prépare: a) des solutions des trois triols contenant chacune 2,025 mgr. par cm³; b) une solution de periodate de potassium contenant 4,0 mgr. par cm³.

En raison des grandes vitesses d'oxydation, les essais ont été effectués en solution très diluée.

0,5 cm³ de solution de triol sont introduits dans un mélange de 150 cm³ H₂O + 2,5 cm³ KIO₄ + 0,5 cm³ H₂SO₄ n. Température: 20°. Au bout d'un temps déterminé, on ajoute rapidement 2,5 cm³ d'une solution de CH₃COONa·3H₂O à 200 gr. par litre et un peu de KI solide. On titre par Na₂S₂O₃ 0,01-n, en présence d'amidon.

Les chiffres obtenus sont défalqués de ceux fournis par un essai témoin sans triol.

Tableau I.

Temps en minutes	Triol α		Triol β		Triol γ	
	I	II	I	II	I	II
3	—	—	0,54	0,35	0,91	0,59
5	—	—	0,80	0,52	1,27	0,83
10	0,22	0,14	1,17	0,76	1,40	0,91
15	0,45	0,29	1,44	0,94	1,59	1,04
25	0,74	0,48	1,68	1,09	1,73	1,13
40	0,99	0,65	1,83	1,19	1,83	1,19
1050	3,17	2,07	3,22	2,10	3,22	2,10

Les 3 colonnes I du tableau I indiquent la consommation en KIO₄ exprimée en cm³ Na₂S₂O₃ 0,01-n, les 3 colonnes II la consommation en KIO₄ exprimée en mol. par mol. de triol.

On voit qu'au début les vitesses d'oxydation des trois triols croissent dans l'ordre suivant: α , β , γ . La consommation finale des trois triols est d'environ 2 mol. KIO₄.

Oxydation par le tétra-acétate de plomb.

On prépare des solutions des trois triols (dans l'acide acétique glacial distillé sur Pb(OAc)₄) contenant chacune 2,64 mgr. par cm³.

5 cm³ de solution de triol sont mélangés à 5 cm³ d'une solution 0,1-n de Pb(OAc)₄ dans l'acide acétique glacial. Température: 27°. Au bout d'un temps déterminé, on prélève 1 cm³ du mélange qu'on introduit dans 5 cm³ d'une solution aqueuse contenant par litre 500 gr. CH₃COONa·3H₂O et 20 gr. KI. On titre, en présence d'amidon, par Na₂S₂O₃ 0,01-n.

¹⁾ Comp. Shoppee et Reichstein, *Helv.* **25**, 1622 (1942); Th. Posternak, *Helv.* **27**, 466 (1944).

Les chiffres obtenus sont défalqués de ceux fournis par un essai témoin sans triol.

Tableau II.

Temps en minutes	Triol α		Triol β		Triol γ	
	I	II	I	II	I	II
5	0,05	0,02	0,75	0,37	1,14	0,57
15	—	—	1,44	0,72	2,08	1,04
20	0,30	0,15	1,88	0,94	—	—
28	—	—	2,08	1,04	2,62	1,31
45	0,55	0,27	2,62	1,31	2,87	1,43
100	1,09	0,54	3,24	1,62	3,32	1,66
1200	4,52	2,26	4,65	2,32	4,78	2,39

La signification des colonnes I et II du tableau II est, *mutatis mutandis*, la même que dans le tableau I. Les vitesses d'oxydation des trois triols croissent dans l'ordre α , β , γ . La consommation finale en $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ dépasse notablement 2 mol.

2,6-Dioxy-cyclohexanone *cis* VI.

Préparation de la phénylhydrazone de la substance VI.

1 gr. de triol est introduit à 0° dans 16 cm³ d'une solution obtenue en dissolvant 4,5 gr. Na_2CO_3 anhydre et 1,64 cm³ Br_2 dans 30 cm³ d'eau. On laisse 2½ h. à 0°, puis 2 h. à température ordinaire. On acidifie ensuite par H_2SO_4 à 50% et ajoute jusqu'à décoloration, de l'hydrogénosulfite de sodium solide. On neutralise ensuite par Na_2CO_3 solide et introduit une solution de 2 cm³ de phénylhydrazine dans 4 cm³ d'acide acétique à 50%. Après 2 h. de repos à la glacière, on essore le précipité rougeâtre qu'on lave à fond à l'eau et sèche (30 mgr.). On le lave ensuite avec un peu d'éther. Pour la recristallisation, on dissout dans 7 parties de pyridine et ajoute 10 parties d'eau. Aiguilles incolores fondant à 161°. Le produit s'altère avec le temps.

4,000 mgr. subst. ont donné 0,468 cm³ N_2 (24,5°, 732 mm)

$\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_2\text{N}_2$ Calculé N 12,73 Trouvé N 12,93%

Préparation de la 2,6-dioxy-cyclohexanone à partir de sa phénylhydrazone.

110 mgr. de la phénylhydrazone précédente sont suspendus dans 3 cm³ d'eau. On introduit 0,3 cm³ de benzaldéhyde et 6 mgr. d'acide benzoïque et on chauffe 20 min. à l'ébullition à reflux. Après refroidissement, on essore la phénylhydrazone du benzaldéhyde, extrait 3 fois avec 5 cm³ d'éther et évapore à sec dans le vide. La dioxycétone (56 mgr.) se sépare sous forme cristalline (aiguilles); elle est fort peu soluble même dans l'eau bouillante, mais une fois dissoute, elle ne cristallise plus par refroidissement. Pour la séparer de ses solutions, on est obligé de concentrer fortement ces dernières. Le produit a un p. de f. variable compris entre 130° et 149°, mais quel que soit leur point de fusion, tous les échantillons ont la même composition et, traités par la phénylhydrazine, redonnent quantitativement la phénylhydrazone de départ fondant à 161°.

Le produit réduit la liqueur de *Fehling* à froid.

3,250 mgr. subst. (p. de f. 143—145°) ont donné 6,590 mgr. CO_2 et 0,229 mgr. H_2O

$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_3$ Calculé C 55,37 H 7,74%

Trouvé „ 55,30 „ 7,89%

On sait que la 2-oxy-cyclohexanone possède également un p. de f. variable, ce que *Bergmann* et *Gierth*¹⁾ expliquent par la présence, en proportions variables, d'un mélange de forme cétonique et de semi-acétal.

Par un traitement de quelques secondes par l'anhydride acétique bouillant en présence de chlorure de zinc, on obtient un dérivé acétylé qui, par recristallisation dans l'alcool, donne des aiguilles fondant à 147—148°.

Hydrogénations de la 2,6-dioxy-cyclohexanone VI.

Par hydrogénation catalytique en présence d'oxyde de platine, en solution aqueuse neutre, la dioxy-cyclohexanone VI se transforme quantitativement en triol γ de p. de f. 145—147°.

L'hydrogénation par l'amalgame de sodium en présence d'acide sulfurique a été effectuée dans les mêmes conditions que celle de la 2,3-dioxy-cyclohexanone VII (voir plus haut). Un essai fait il est vrai avec une petite quantité de substance, ne nous a fourni comme produit de réduction que du triol γ .

Hydrogénation catalytique en milieu acide.

Une solution de 50 mgr. de dioxy-cyclohexanone VI dans 3 cm³ H₂SO₄ à 10% est agitée dans une atmosphère d'hydrogène en présence de 16 mgr. d'oxyde de platine. Consommé 2,1 mol. H₂. On filtre et épuise le liquide à l'éther dans un petit appareil à extraction continue. La solution étherée est séchée sur du sulfate de sodium anhydre et évaporée à sec. Le résidu consiste en un mélange de cyclohexane-diol-1,3 *cis* et de cyclohexane-triol γ . On le reprend par un peu d'éther acétique et essore l'insoluble qui consiste en triol γ qu'on lave à l'éther anhydre. Les liquides sont évaporés à sec et cette suite d'opérations est répétée encore deux fois. La fraction la plus soluble est finalement recristallisée dans un peu d'éther acétique; il se sépare de gros prismes accompagnés de quelques fines aiguilles. Ces dernières représentent des restes de triol γ ; il est facile de les éloigner mécaniquement. Les gros prismes fondent à 83—84°; leur mélange avec un échantillon de cyclohexane-diol-1,3 *cis* préparé d'après *Lindemann* et *de Lange*²⁾ par hydrogénation du résorcinol (p. de f. 85—86°) fond à 85°; le mélange avec du cyclohexane-diol-1,2 *cis* (p. de f. 100—101°) fond, par contre, à 65°.

Lausanne, Laboratoire de Chimie organique de l'Université.

¹⁾ A. 448, 48 (1926).

²⁾ A. 477, 78 (1930).