

96. Recherches sur l'amidon. XXXI.

La constitution de la lichénine

par Kurt H. Meyer et P. Görtler.

(6 III 47)

La lichénine ou «amidon de lichen» est un des polysaccharides de la mousse d'Islande (*Cetraria islandica*). Depuis sa découverte par *Berzelius* en 1813¹), elle a fait l'objet de nombreux travaux sans que l'on soit arrivé à une conception parfaitement fondée de sa constitution.

Voici les faits expérimentaux qui nous semblent être bien établis. La lichénine s'hydrolyse en milieu acide en donnant uniquement du *d*-glucose (*Klason*²); *Hörnig* et *Schubert*³); *Ulander* et *Tollens*⁴); *Poulsson*⁵); *Reilly*, *Hayes* et *Drumm*⁶)). Par acétolyse de la lichénine, on obtient de l'octacétyl-cellobiose, mais cependant en rendement nettement inférieur à celui de l'acétolyse de la cellulose (*Karrer*, *Joos* et *Staub*⁷)). Par méthylation, suivie d'hydrolyse, *Karrer* et *Nishida*⁸) obtiennent du 2,3,6-triméthylglucose. Le pouvoir rotatoire dans NaOH 2 n est très faible: $[\alpha]_D^{20} = +8,33^\circ$ (*Hess* et *Friese*⁹)); $+8,52^\circ$ (*Pringsheim* et *Lamm*¹⁰)); $+10,4^\circ$ (*Staudinger* et *Lantzsch*¹¹)). La lichénine n'est pas du tout ou que très peu ramifiée: ceci découle du dosage des groupes terminaux qui ne représentent que les 0,87 % des restes de glucose (*Hess* et *Lauridsen*¹²)).

Toutes ces observations sont en faveur d'une constitution identique à celle de la cellulose ou très peu différente de celle-ci: c'est-à-dire une chaîne de restes de glucose liés par des liaisons β 1—4. C'est pour cette raison que *Karrer* a proposé pour la lichénine le nom de «Cellulose de réserve».

Cependant, les propriétés physiques des deux polysaccharides sont nettement différentes: la lichénine est soluble dans l'eau chaude et dans la soude caustique diluée froide, la cellulose ne l'est pas. La

¹⁾ *J. J. v. Berzelius*, Schweiggers Journ. **7**, 342 (1813).

²⁾ *P. Klason*, B. **19**, 2541 (1886).

³⁾ *H. Hörnig* et *St. Schubert*, M. **8**, 452 (1887).

⁴⁾ *A. Ulander* et *B. Tollens*, B. **39**, 401 (1906).

⁵⁾ *E. Poulsson*, Festschrift für *Olaf Hammarsten* XIV. 25 S. 11/10. Pharmakol. Inst. der Univ. Oslo; C. **1906**, II, 1511.

⁶⁾ *J. Reilly*, *M. Hayes* et *P. I. Drumm*, Proc. Roy. Irish Acad. [B] **40**, 102 (1931).

⁷⁾ *P. Karrer*, *B. Joos* et *M. Staub*, Helv. **6**, 800 (1923).

⁸⁾ *P. Karrer* et *K. Nishida*, Helv. **7**, 363 (1924).

⁹⁾ *K. Hess* et *H. Friese*, A. **455**, 180 (1927).

¹⁰⁾ *H. Pringsheim* et *C. Lamm*, Koll. Z. **54**, 36 (1931).

¹¹⁾ *H. Staudinger* et *B. Lantzsch*, J. pr. [2] **156**, 65 (1940).

¹²⁾ *K. Hess* et *L. W. Lauridsen*, B. **73**, 115 (1940).

lichénine est amorphe, tandis que la cellulose révèle une structure cristalline aux rayons X.

Staudinger et *Lantzsche* (loc. cit.) furent les premiers à constater un fait chimique qui différencie les deux corps: la lichénine a une teneur en groupes méthoxyles de 0,3 à 0,5 %. Cette teneur correspond à un polysaccharide qui possède un groupe $-\text{OCH}_3$ pour environ 50 restes de glucose. Elle ne permet pourtant pas d'expliquer la grande solubilité de la lichénine, car la solubilité de la cellulose dans la soude caustique n'augmente que lorsqu'on y introduit au moins un groupe méthoxyle pour 2 à 3 restes de glucose.

Voici les hypothèses qui ont été formulées pour expliquer les différences existant entre la lichénine et la cellulose. *Karrer*¹⁾ suppose que les solubilités différentes des deux polysaccharides proviennent de leur structure colloïdale. *Tollens* et *Elsner*²⁾ ainsi que *Pringsheim*³⁾ émettent l'hypothèse que la lichénine possède la même structure que la cellulose, et que seul son poids moléculaire est inférieur. De telles vues ne peuvent plus être admises depuis que *Hess* et ses collaborateurs⁴⁾ ont montré que des celluloses d'une longueur de chaîne de moins de 40 restes de glucose sont parfaitement insolubles dans l'eau chaude. *Staudinger* et *Eilers*⁵⁾ attribuent leurs solubilités différentes à une différence de leur structure macromoléculaire. Ils supposent que la lichénine n'a pas la structure droite de la cellulose, mais que ses molécules sont ramifiées ou en forme de «méandres». *Hess* et *Lauridsen* (loc. cit.) essaient d'expliquer la constitution de la lichénine en admettant une chaîne de glucose qui comprendrait alternativement des liaisons 1-1, 1-4 et 4-4, et qui donnerait, lors de la dégradation enzymatique, 100 % de cellobiose. Mais cette hypothèse n'est pas compatible avec nos connaissances sur la stabilité des liaisons éthéroxydes (4-4).

Etant donné ces contradictions, nous n'avons procédé à de nouvelles recherches qu'après avoir vérifié les bases expérimentales précédentes. Voici les faits que nous avons établis et les conclusions que nous en avons tirées.

Préparation et propriétés de la lichénine.

Nous avons traité la mousse d'Islande (produit du commerce, contenant uniquement *Cetraria islandica*) par du carbonate de

¹⁾ *P. Karrer*, „Polymere Kohlehydrate“, Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig 1925, S. 104.

²⁾ *Tollens-Elsner*, „Handbuch der Kohlehydrate“, Verlag Ambrosius Barth, 1935, S. 581.

³⁾ *H. Pringsheim*, „Die Polysaccharide“, Verlag Springer, Berlin, 3. Aufl., S. 95.

⁴⁾ *K. Hess*, *C. Trogus* et *K. Dziengel*, A. **501**, 49 (1933); *K. Dziengel*, *C. Trogus* et *K. Hess*, A. **491**, 52 (1931).

⁵⁾ *H. Staudinger* et *H. Eilers*, B. **69**, 848 (1936).

potassium dilué afin d'en éliminer les tannins, puis nous avons extrait la lichénine qu'elle contenait par de l'eau bouillante. La lichénine qui précipite lors du refroidissement a été redissoute et reprécipitée plusieurs fois, jusqu'à disparition de la réaction colorée avec l'iode, puis finalement soumise à l'électrodialyse. Le produit filtré, lavé à l'alcool et à l'éther est floconneux et facilement soluble dans l'eau chaude et dans la formamide froide. Il ne contient pas d'azote; l'analyse du produit sec correspond à la formule $C_6H_{10}O_5$.

La constante de dissociation est de l'ordre de 10^{-7} ; le produit ne contient donc pas de groupes carboxyles ou d'autres groupes acides. L'absence de restes uroniques est d'autre part démontrée par une analyse qualitative des produits de scission hydrolytique (réaction négative avec le naphto-résorcinol). Le dosage des groupes méthoxyles donne une teneur de 0,34—0,38 % en $—OCH_3$. La lichénine contient donc un groupe méthoxyle pour 50—55 restes de glucose. Les groupes méthoxyles se trouvent en liaison étheroxyde, car ils ne sont pas éliminés par la soude caustique à chaud.

Analyse des produits d'hydrolyse.

Après hydrolyse par HCl n , le dosage, selon *Bertrand*, donne une teneur de 97 ± 1 % de glucose. Le pouvoir rotatoire de l'hydrolysat de la lichénine est $[\alpha]_D^{20} = +51,0^\circ$. Les hexoses de la lichénine hydrolysée sont entièrement fermentés par la levure de boulangerie dans des conditions où le glucose est fermenté à 100 %, le *d*-mannose à 80 % et le *d*-galactose à 25 %. Avec la N-méthyl-phénylhydrazine, réactif spécifique du galactose, on n'obtient aucune réaction; de même avec la phénylhydrazine à froid, réactif du mannose. En tenant compte des limites de sensibilité de ces deux méthodes, il résulte que la lichénine contient au maximum 0,5 % de galactose et 1 % de mannose. Il est donc extrêmement probable qu'aucun de ces sucres ne se trouve dans la lichénine. L'osazone obtenue à chaud avec la phénylhydrazine est de la glucosazone pur.

Cela confirme les résultats antérieurs d'après lesquels la lichénine est uniquement composée de restes de glucose. Cependant, la nature du sucre portant le groupe méthoxyle et formant les 2 % des sucres totaux n'est pas encore établie.

Le dosage des groupes terminaux par méthylation, hydrolyse et distillation donne 0,6 % de tétraméthylglucose, conformément aux travaux de *Hess* et *Lauridsen* (loc. cit.). Il y a donc un groupe terminal pour 150—200 restes de glucose. D'après *Staudinger* et *Lantzsch* (loc. cit.), le degré de polymérisation calculé à partir de la pression osmotique est de 200—360; la lichénine est donc très peu ou même pas du tout ramifiée.

Le triacétate de lichénine peut être étiré à chaud en fils très solides, montrant une forte biréfringence, ce qui est conforme à la

conception de molécules filiformes non ramifiées. L'examen aux rayons X ne révèle aucune trace de cristallisation (voir aussi *Hess* et *Schultze*¹)) tandis que le triacétate de cellulose étiré est toujours nettement cristallisé. La chaîne de la lichénine ne doit donc pas être aussi régulière que celle de la cellulose: à côté des liaisons β 1-4 elle doit contenir des liaisons glucosidiques d'un autre type. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons examiné la nature des sucres méthylés résultant de l'hydrolyse de la lichénine méthylée.

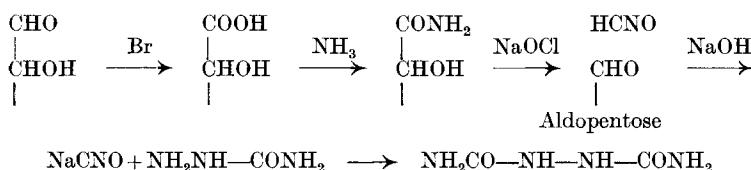
Examen des produits d'hydrolyse de la lichénine méthylée.

a) Par chromatographie, le mélange des méthylglucosides des sucres méthylés se scinde en différentes fractions. Il est possible de séparer les tétra-, tri-, et diméthyl-méthylglucosides, ainsi que d'enrichir les parties α - et β -glucosidiques des fractions. Par contre, il est impossible ou au moins très difficile de séparer les différents triméthylglucosides entre eux.

b) Nous avons directement étudié le mélange des sucres méthylés résultant de l'hydrolyse de la lichénine complètement méthylée ($-\text{OCH}_3=45,6\%$). La méthylation complète est obtenue par une nouvelle méthode de perméthylation qui fera l'objet d'un mémoire ultérieur.

Recherche du 2,3,4-triméthylglucose. Parmi les triméthylglucoses, seul le 2,3,4-triméthylglucose donne du formaldéhyde avec l'acide périodique. Cette réaction est très lente et se distingue facilement de la formation rapide de formaldéhyde à partir des diméthylglucoses ayant un hydroxyle libre en C₆. Nous ne trouvons pas de 2,3,4-triméthylglucose, ce qui prouve l'absence de liaisons 1-6.

Recherche du 3,4,6-triméthylglucose. Le 3,4,6-triméthylglucose doit donner la réaction de *Weerman*²), caractéristique des sucres ayant l'hydroxyle de l'atome de carbone 2 libre. Cette réaction consiste en l'oxydation du sucre par le brome, transformation en lactone, puis en amide. L'amide traitée par l'hypochlorite de sodium produit de l'isocyanate de sodium qui donne un précipité d'hydrazodicarbonamide avec la semicarbazide:



Or le mélange des sucres méthylés donne une réaction de *Weerman* complètement négative, ce qui prouve l'absence du 3,4,6-trimé-

¹⁾ *K. Hess*, Die Chemie der Cellulose, S. 94 (1928).

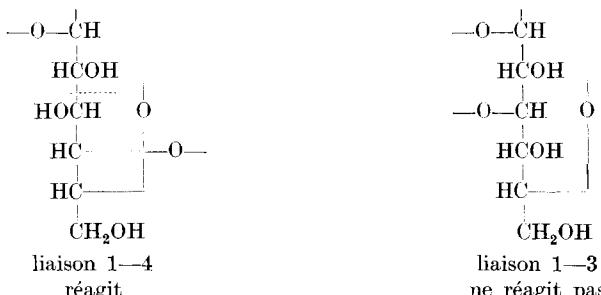
²⁾ *R. A. Weerman*, R. 37, 16 (1917).

thylglucose. Si l'on tient compte de la sensibilité de cette méthode, la teneur en liaisons 1-2 est en tout cas inférieure à 5 %. Elle est probablement nulle.

Recherche du 2,3,6-triméthylglucose. Dans le sirop contenant le mélange des sucres méthylés, il se forme après quelques jours des cristaux de 2,3,6-triméthylglucose qui prouvent la présence de liaisons 1-4 dans la lichénine.

Recherche du 2,4,6-triméthylglucose (d'après *Granichstätten et Percival*¹⁾). Après séparation du 2,3,6-triméthylglucose qui a cristallisé, le résidu sirupeux donne avec l'aniline, l'anilide cristallisé du 2,4,6-triméthylglucose, à partir duquel ce sucre est obtenu à l'état pur: la lichénine contient donc des liaisons 1-3.

Proportion relative des liaisons 1-4 et 1-3. Etant donné l'absence de 2,3,4- et de 3,4,6-triméthylglucose, il ne peut y avoir dans la lichénine que des liaisons 1-3 et 1-4. Les restes de glucose liés en position 1 et 3 n'ont pas deux hydroxyles voisins libres et ne peuvent donc pas être oxydés par l'acide périodique. Seuls les restes de glucose liés en position 1 et 4 peuvent réagir.



L'acide périodique agissant en excès sur la lichénine est réduit jusqu'à une limite qui correspond à l'oxydation de $73 \pm 4\%$ des restes de glucose en dialdéhydes. 73 % des restes de glucose sont donc liés en 1-4, le reste en 1-3.

Conclusions.

La lichénine est un mélange de polymères homologues non (ou très peu) ramifiés. A l'exception d'un sucre méthylé qui s'y trouve dans la proportion de 1 à 2 % et dont la nature n'est pas encore déterminée, elle est formée uniquement de restes de *d*-glucose. Les restes de glucose sont liés par des liaisons β -glucosidiques, dont $73 \pm 4\%$ sont du type 1-4 et $27 \pm 4\%$ du type 1-3. La chaîne est donc irrégulière. Cette irrégularité explique l'état amorphe de la lichénine et sa solubilité dans l'eau chaude.

¹⁾ *H. Granichstätten et E. G. V. Percival, Soc. 1943, 54.*

Partie expérimentale.

Préparation de la lichénine.

D'après les prescriptions de *Ulander* et *Tollens*¹⁾, *Karrer*²⁾ et *Hess*³⁾, la mousse d'Islande est d'abord traitée plusieurs fois par du K_2CO_3 à 2% à 20° pour éliminer les tannins, puis extraite par 13 fois son poids d'eau bouillante, ou par des eaux-mère de préparations précédentes, pendant 24 heures.

Le mélange est filtré à chaud à travers un filtre de tissu et le résidu exprimé. Par refroidissement de la solution, la lichénine forme un gel volumineux. Le tout est congelé, puis dégelé. La lichénine devient alors floconneuse et la solution est centrifugée. Le liquide surnageant est utilisé pour de nouvelles extractions de la mousse, afin d'enrichir la teneur de celui-ci en polysaccharides solubles à froid («isolichénine»).

La lichénine est lavée à l'eau, redissoute à chaud, et reprécipitée par congélation. On répète cette opération jusqu'à disparition de la réaction colorée avec l'iode, et sèche par lavage à l'alcool et à l'éther. Le rendement est de 9,5% par rapport à la mousse sèche.

Pour les analyses, le produit est soumis à l'électrodialyse et séché dans le vide poussé à 80°.

3,566 mgr. de subst. ont donné 5,57 mgr. CO_2 et 1,90 mgr. H_2O .

Trouvé C 42,6 H 5,95%

Cendres 0,67%, azote 0,0%.

Groupes méthoxyles: 118,8 mgr. de subst. ont donné 2,930 mgr. AgJ ; $OCH_3 = 0,34\%$.

Groupes carboxyles. La lichénine, préalablement dissoute dans $NaOH$ 2 n et précipitée par HCl en excès, est lavée et soigneusement électrodialysée. Le produit séché dans le vide est titré d'après *Van der Wyk* et *Studer*⁴⁾.

Une goutte de $NaOH$ 0,01 n donne la réaction alcaline (rouge de méthyle) avec 0,2 gr. de lichénine suspendus dans l'eau pour mesure de conductibilité. Il n'y a donc pas de groupes acides dans la lichénine.

Analyse des produits d'hydrolyse.

Hydrolyse: La lichénine est hydrolysée en solution à 0,5% dans HCl 0,1 n pendant 5 heures à l'ébullition dans un courant d'azote, puis la solution est neutralisée.

Fermentation: La solution est soumise à la fermentation par la levure de boulangerie (p_H 8,4, $t = 40^\circ$, durée 30 min.⁵⁾; dans ces conditions, le glucose et le fructose sont fermentés à 100%, le *d*-mannose à 80% et le *d*-galactose à 25%). Après la fermentation, le pouvoir réducteur de la solution est nul. La fermentation est donc totale.

Pouvoir rotatoire:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{+2,25 \cdot 100}{1 \cdot 4,41} = +51 \pm 1^\circ$$

Pouvoir réducteur: 15,7 mgr. de lichénine sèche hydrolysée consomment (d'après *Bertrand*) 5,4 cm^3 MnO_4K 0,1 n correspondant à 17,1 mgr., soit $97,6 \pm 2\%$ d'hexose calc. en glucose.

Recherche des acides uroniques. La réaction au naphtho-résorcinol d'une solution de lichénine hydrolysée contenant 6% de sucre est négative.

Recherche du galactose. La lichénine est hydrolysée par H_2SO_4 à 4% et neutralisée au CO_3Ba . Le filtrat évaporé à sec dans le vide est repris dans l'alcool à 90%, filtré et évaporé à sec. 1,4 gr. de ce produit sont dissous dans 20 cm^3 d'alcool à 50%, et additionnés de 0,2 gr. de N-méthyl-phénylhydrazine. Après 48 heures à 5° aucun précipité ne se forme. Un mélange de 1,4 gr. de glucose et de 0,007 gr. de *d*-galactose donne dans les mêmes

¹⁾ *A. Ulander et B. Tollens, B.* **39**, 401 (1906).

²⁾ *P. Karrer, B. Joos et M. Staub, Helv.* **6**, 800 (1923).

³⁾ *K. Hess et L. W. Lauridsen, B.* **73**, 115 (1940).

⁴⁾ *M. Studer, Thèse N° 1087, Univ. Genève* (1946).

⁵⁾ *K. H. Meyer et P. Bernfeld, Helv.* **24**, 359 E (1941).

conditions un précipité faible, mais nettement perceptible. La teneur en galactose est donc inférieure à 0,5%.

Recherche du mannose. Une solution de 0,75 gr. de produit hydrolysé, dans 5 cm³ d'eau, est additionnée de 0,25 gr. d'acétate de sodium et de 0,25 gr. de chlorhydrate de phénylhydrazine dans 2,5 cm³ d'eau. Aucun précipité ne se forme à froid après 2 jours. Une solution de mannose à 0,06% donne dans la même dilution un précipité visible.

Méthylation de la lichénine. La lichénine est méthylée 5 fois selon la méthode élaborée pour l'amidon et l'amylose¹⁾. Le produit finalement précipité à chaud est redissous à froid, dialysé, électrodialysé, évaporé à sec au vide, dissous dans du benzène, précipité par la ligroïne, lavé à l'éther de pétrole et séché. Il est alors dissous dans 20 parties de CHCl₃ et étalé sur une plaque de verre. Il se forme ainsi un film très solide, facilement soluble dans l'eau froide, l'acétone et l'éther, insoluble dans la ligroïne. Rendement 31 gr. pour 30 gr. de lichénine. Teneur en méthoxyle: 41—43,5%—OCH₃.

Hydrolyse de la méthyl-lichénine.

10 gr. de méthyl-lichénine dans 50 cm³ d'acide acétique glacial et 100 cm³ d'HCl 5% sont chauffés pendant 15 heures au bain-marie. L'acide chlorhydrique est éliminé par de l'Ag₂CO₃ fraîchement précipité d'une solution de 23,5 gr. d'AgNO₃. On filtre, concentre dans le vide, à 40°, à un tiers, complète par de l'eau jusqu'au volume primitif, évapore de nouveau et répète cette opération 4 à 5 fois. On ajoute un peu de BaCO₃ jusqu'à neutralisation, évapore à sec et épouse la masse pâteuse avec du chloroforme. La solution chloroformique est séchée sur du Na₂SO₄, filtrée et évaporée jusqu'à élimination complète du solvant et formation d'un sirop visqueux.

Dosage des groupes terminaux.

a) *par distillation:*

Ce sirop est glucosidifié de la façon habituelle et le mélange des glucosides fractionné dans le vide poussé. A partir de 12,65 gr. on obtient une fraction de tête contenant 76,5 mgr. de tétraméthyl-méthylglucoside d'après l'indice de réfraction et le pouvoir rotatoire. En tenant compte des pertes, on arrive à une teneur de 0,6% de groupes terminaux.

b) *par chromatographie:*

35,3 gr. du sirop sont dissous dans 100 cm³ d'eau et extraits douze fois avec des portions de 30 cm³ d'éther. Tout le tétraméthyl-méthylglucoside se trouve alors pratiquement dans l'éther. La solution étherée est séchée et évaporée; le résidu (10,3 gr.) repris dans 200 cm³ d'un mélange benzène-éther de pétrole 1:6 est passé à travers une colonne de 150 gr. d'oxyde d'aluminium *Brockmann* d'activité II—III. On développe par un mélange benzène-éther 2:13 et on recueille des fractions de 200 cm³.

Les quatre premières fractions contiennent un mélange de tétra- et de triméthyl-méthylglucosides.

La cinquième ne contient que des triméthyl-méthylglucosides. Ces quatre premières fractions sont réunies, dissoutes dans 80 cm³ d'un mélange benzène-éther de pétrole 1:100, chromatographiées sur 60 gr. d'alumine et développées par de l'éther de pétrole pur. On recueille des fractions de 80 cm³.

Voici les propriétés des deux premières fractions (Tableau N° 1):

Tableau 1.

Fraction	Poids	n _D ¹⁶	[α] _D ²⁰ (CHCl ₃)	% tétra	tétra en mgr.
1	0,360	1,4507	+ 18°	37,5	135
2	0,456	1,4544	- 30°	0	0

¹⁾ K. H. Meyer, M. Wertheim et P. Bernfeld, *Helv.* **24**, 212 (1941).

La deuxième fraction contient donc uniquement du β -triméthyl-méthylglucoside et la première est par conséquent un mélange d' α - et β -tétraméthyl-méthylglucoside et de β -triméthyl-méthylglucoside. En admettant pour un mélange d' α - et β -tétraméthyl-méthylglucoside $n_D^{16} = 1,4445$ et $[\alpha]_D^{20} = +100^\circ$ et pour le β -tri- les valeurs de la fraction 2, on arrive à une teneur de 37,5% en tétra correspondant à 0,135 gr. de tétra. En tenant compte des pertes (évaluées à 10%), on arrive à une teneur en groupes terminaux de 0,4%.

Le but principal de ces essais chromatographiques était cependant le fractionnement des triméthyl-méthylglucosides. En éluant successivement avec de l'éther de pétrole additionné de quantités croissantes de benzène, puis avec du benzène pur, du benzène-éther, et enfin de l'éther-méthanol, on a obtenu 27 fractions qui, par un deuxième fractionnement chromatographique, ont été séparées en 58 fractions. Les dérivés β sont élus les premiers: (fraction de tête, $[\alpha]_D^{20} = -38^\circ$), les α ensuite, $[\alpha]_D^{20} = +68^\circ$. Aucune séparation des isomères 2,3,4; 3,4,6; 2,3,6 et 2,4,6 n'a été observée.

Recherche des sucres méthylés.

2,3,4-Triméthylglucose.

Le 2,3,4-triméthylglucose donne par oxydation au moyen de l'acide périodique du formaldéhyde. Cependant, cette réaction est très lente. L'oxydation à l'acide périodique des diméthylglucoses ayant l'hydroxyle du C₆ libre se fait par contre très rapidement. Il est donc possible, en étudiant la marche de la réaction, de savoir si le formaldéhyde provient de l'oxydation du 2,3,4-triméthylglucose, ou d'un diméthylglucose (Jeanloz¹).

Tableau 2.

Sucre	Durée de l'oxydation en heures	mgr. de sucre	mgr. de précipité obtenu	Rendement*) en %
2,3-diméthyl-glucose	1	14,20	18,8	94
	2	7,25	10,2	100
2,3,4-triméthyl-glucose	2	11,75	0,3	2
	4	54,4	4,3	6
	18	23,5	5,2	17
	48	54,4	20,0	28
mélange des sucres méthylés	4	170,0	3,0	1,25
	48	170,0	3,1	1,3

*) Les essais se font à la température de 20°, le point de fusion des précipités de formaldéhyde-dimédon est de 188—190°. Rendement en %: Une molécule d'aldéhyde formique par groupe alcoolique primaire = 100%.

Le mélange des sucres méthylés obtenu par hydrolyse de la lichénine perméthylée ($-\text{OCH}_3 = 45,6\%$), traité par l'acide périodique donne pratiquement la même quantité de formaldéhyde après 4 heures et après 48 heures (voir tableau N° 2). Il n'y a donc pas de 2,3,4-triméthyl-glucose dans ce mélange, ce qui exclut la possibilité de liaisons 1—6 dans la lichénine.

Les 1,3% de produits oxydés sont donc des diméthylglucoses. Il existe trois possibilités pour leur provenance. 1^o En tenant compte de la précision des dosages des groupes

¹⁾ R. Jeanloz, Helv. **27**, 1509 (1944).

méthoxyles ($\pm 0,1\%$), il se peut que la lichénine ne soit pas entièrement méthylée. 2^o La lichénine peut être faiblement ramifiée. 3^o Il peut y avoir déméthylation partielle lors de la scission hydrolytique de la lichénine. Il est évident que ces trois phénomènes peuvent se superposer.

3,4,6-triméthyl-glucose.

3,7 gr. du mélange des sucres méthylés obtenu par hydrolyse de la lichénine perméthylée ($-\text{OCH}_3$: 45,47%) sont dissous dans 50 cm³ d'eau et additionnés de 5 gr. de brome. Après deux jours, l'excès de brome est chassé au bain-marie par un courant d'air. On neutralise avec de l' Ag_2CO_3 , filtre et élimine les sels d'argent par H_2S et évapore dans le vide à 35^o. Le résidu est repris dans du chloroforme, la solution séchée sur du Na_2SO_4 et évaporée. On obtient ainsi 3,18 gr. d'un mélange sirupeux d'acides gluconiques triméthylés. Afin d'obtenir la lactonisation, le sirop est séché à 100^o pendant deux heures à 12 mm, puis distillé à 140—150^o à 0,05 mm. Le distillat incolore et très visqueux est additionné de 70 cm³ de méthanol préalablement saturé avec de l'ammoniaque, puis abandonné pendant 3 jours à 0^o. Par évaporation, l'on obtient le mélange des amides sous forme d'une résine. 1 gr. de ce mélange est dissous dans 5 cm³ d' H_2O , additionné de 11 cm³ de solution standard de NaOCl (Weerman¹) à 0^o et abandonné pendant 3 heures à 2^o. Après destruction de l'excès de NaOCl par du $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 1 n (environ 2 cm³), on ajoute 2 gr. d'acétate de sodium et 0,5 gr. de chlorhydrate de semicarbazide dissous dans un peu d'eau. On n'observe aucun précipité après 48 heures. Etant donné que 50 mgr. de gluconamide est la quantité minimum donnant un précipité perceptible dans ces mêmes conditions, la précision de cette méthode est de 5%.

2,3,6-triméthyl-glucose.

Dans 5 gr. de sirop obtenu par hydrolyse d'une méthyl-lichénine contenant 42,3% d' $-\text{OCH}_3$, il se sépare après quelques jours des cristaux qui, par addition d'un excès d'éther, filtration et recristallisation dans l'éther pur ont un p. de f. de 115—116^o (p. de f. du mélange avec du 2,3,6-triméthyl-glucose synthétique = 115—116^o). Rendement environ 2,2 gr.

2,4,6-triméthyl-glucose.

Le filtrat de l'opération précédente contenant 2,5 gr. de sucre est évaporé, dissous dans 10 cm³ d'alcool absolu, additionné de 1 cm³ d'aniline et porté à ébullition pendant 3 heures. Après 2 jours à 4^o, un précipité cristallin se forme, qui, après recristallisation dans de l'éther contenant un peu d'alcool, possède un p. de f. de 158^o (anilide du 2,4,6-triméthyl-glucose, p. de f. 162^o). Rendement 0,3 gr. en produit recristallisé, 0,3 gr. de l'anilide précédent dans 50 cm³ d' H_2SO_4 à 3,5% sont chauffés au bain-marie pendant deux heures dans un courant de CO_2 . Après neutralisation par du BaCO_3 on filtre, élimine l'aniline en secouant la solution deux fois avec de l'éther, évapore à sec la solution, extrait le résidu avec du chloroforme et évapore. Le résidu recristallisé dans de l'éther pur a un p. de f. de 125—127^o (p. de f. du mélange avec du 2,4,6-triméthyl-glucose synthétique : 125—127^o).

Action de l'acide périodique sur la lichénine²³.

0,5 gr. de lichénine électrodialysée sont dissous dans 0,75 cm³ de NaOH 30%, dilués à 150 cm³ avec H_2O et la teneur exacte en lichénine est déterminée par hydrolyse d'une prise aliquote et dosage du glucose. 100 cm³ de cette solution sont additionnés de 25 cm³ d'une solution d'acide périodique : (5 gr. $\text{Na}_3\text{H}_2\text{IO}_6$ et 15 cm³ d'acide acétique à 30% sont chauffés, puis dilués à 100 cm³ par H_2O et 10 cm³ de tampon [10,2 cm³ de

¹) R. A. Weerman, A. **401**, 5 (1913).

²) E. L. Jackson et C. S. Hudson, Am. Soc. **59**, 994 (1937).

³) J. H. Michell et C. B. Purves, Am. Soc. **64**, 585, 589 (1942).

$\text{CH}_3\text{COOH} + 30,7 \text{ gr. de } \text{CH}_3\text{COONa}$ crist. dissous dans 250 cm^3 d'eau, $\text{p}_\text{H} 4,8$] puis complétés à 150 cm^3 par H_2O .

Des prises de 10 cm^3 de cette solution sont titrées par du $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 n pour doser la consommation d'acide périodique. Dans la figure 1, une consommation d'acide périodique correspondant à l'oxydation de deux groupes hydroxyles par reste de glucose est indiquée comme «100%» d'oxydation.

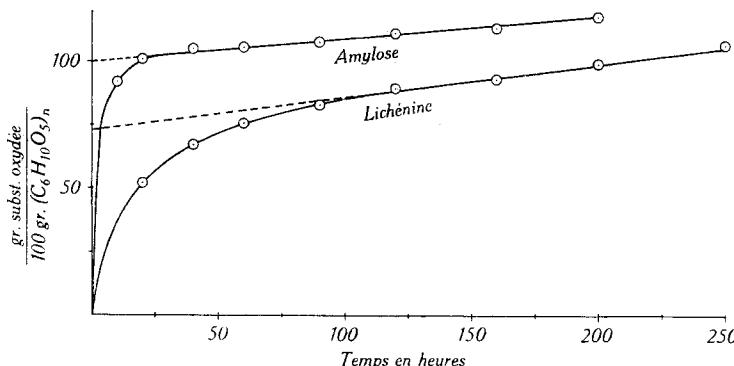


Fig. 1.

Oxydation de la lichenine et de l'amylose par HJO_4 .

A titre de comparaison, une oxydation de l'amylose a été exécutée dans les mêmes conditions.

Comme on le voit, il se superpose deux réactions: la réaction principale avec deux hydroxyles voisins et une réaction secondaire lente. Dans le graphique, l'influence de la deuxième réaction est éliminée par extrapolation au temps 0.

Triacétate de lichenine.

De la lichenine fraîchement précipitée par CH_3OH d'une solution alcaline est acétylée par un mélange pyridine-anhydride acétique. Le produit obtenu contient 44,3% de $-\text{COCH}_3$ (valeur théorique 44,8%) et a un pouvoir rotatoire de $[\alpha]_D^{10} = \frac{-1,50 \cdot 100}{1 \cdot 4,635} = -32,3^\circ$ (CHCl_3).

La viscosité de ces solutions dans le tétrachloroéthane à 25° est indiquée dans le tableau N° 3.

Tableau 3.

Conc. gr./100 cm ³	$\eta_{\text{rel.}}$	$\eta_{\text{spéc./c}}$
0,984	3,26	2,29
0,703	2,40	1,99
0,656	2,28	1,95
0,586	2,09	1,87
0,328	1,53	1,61
0,234	1,35	1,51
0		1,27

Cette viscosité correspond d'après *Staudinger* et *Lantzsch* (loc. cit.) à un degré de polymérisation de 330. Des solutions à 5% de triacétate de lichénine dans le tétrachloro-éthane versées sur une plaque de verre donnent des films d'une grande solidité. Des bandes de film de 2 cm de longueur et 1 cm de largeur roulées dans la longueur peuvent être étirées dans de l'air chauffé à 120—130° jusqu'à une longueur de 4 cm. Ces films possèdent une très forte biréfringence, mais pas d'interférences cristallines.

Laboratoires de Chimie inorganique et organique
de l'Université de Genève.

97. Recherches sur l'amidon XXXII. L'isolichénine

par Kurt H. Meyer et P. Gürtler.

(6 III 47)

On appelle isolichénine les polysaccharides qui, lors de l'extraction de la mousse d'Islande par l'eau chaude passent en solution avec la lichénine, et peuvent en être séparés par leur solubilité dans l'eau froide.

*Salkowski*¹⁾ constate le premier que l'isolichénine ne peut pas être une substance homogène. *Pringsheim*²⁾ d'autre part admet que l'isolichénine est identique à l'amylose; il prétend que par dégradation par la diastase elle donnerait 100% de maltose. Mais *Karrer* et *Joos*³⁾ trouvent parmi les produits d'hydrolyse, du mannose et du galactose à côté du glucose. Au moyen de la liqueur de *Fehling*, *Karrer* et *Joos*³⁾ séparent l'isolichénine en deux fractions. La fraction précipitée par ce réactif ($[\alpha]_D = +88^\circ$ dans l'eau) contient 21% de mannose, 35% de galactose et 44% de glucose (?). La fraction non précipitée ($[\alpha]_D = +148^\circ$) donne une couleur bleue avec l'iode et semble contenir uniquement du glucose. Ces auteurs admettent que cette fraction est encore un mélange de différents polysaccharides.

Nos recherches montrent que l'isolichénine est un mélange d'au moins 5 polysaccharides différents, qu'on peut isoler d'après le schéma indiqué ci-dessous:

¹⁾ *E. Salkowski*, Z. physiol. Ch. **110**, 158 (1920).

²⁾ *H. Pringsheim*, B. **57**, 1581 (1924); Z. physiol. Ch. **144**, 241 (1925).

³⁾ *P. Karrer* et *B. Joos*, Z. physiol. Ch. **141**, 311 (1924).