

Augem, A., 1928. Les glucides des Iris. Nature, genèse et transformations. Chapitre IV: Etude chimique des lévulosanes des Iris. (The sugars of the Irises. Nature, genesis and transformations. Chapitre IV: Chemical study of levulosanes). (French). *Rev. gén. Bot.* 40 (No. 478): 591-600.

Species: *Iris foetidissima*, *I. pseudacorus*.

Key words: flower; chemical constituents; carbohydrate reserves; levulosanes; irisine.

Contents: Preparation and chemical and physical properties of Iris levulosanes (Wallach's irisine).

Revue générale de Botanique 40, 1928, 591-600

## LES GLUCIDES DES IRIS

### NATURE, GENÈSE ET TRANSFORMATIONS

par M. André AUGEM

(Suite et Fin)

#### CHAPITRE IV

#### ÉTUDE CHIMIQUE DES LÉVULOSANES DES IRIS

Dans les chapitres précédents, on a signalé la présence de lévulosanes dans les rhizomes, les tiges florifères et les graines jeunes de *Iris pseudacorus*, dans les rhizomes, les feuilles, les tiges et les graines de *Iris foetidissima*. Deux questions importantes se posent à ce sujet. Tout d'abord s'agit-il, dans une espèce et dans l'autre, des mêmes polyoses lévogyres? D'autre part, dans une même plante, est-ce la même lévulosane que l'on trouve à divers niveaux, du rhizome jusqu'aux graines.

Les analyses méthodiques dont les résultats ont été exposés précédemment laissent entrevoir les réponses qu'il faut faire à ces deux questions. La lévulosane principale du rhizome de *Iris foetidissima* paraît bien être différente de l'irisine de *Iris pseudacorus*; de plus, elle est constamment accompagnée d'un autre polyose lévogyre, tributaire de la sucrase, qui fait absolument défaut dans *Iris pseudacorus*. Pour ce qui est de l'identité des lévulosanes dans les divers organes d'une même espèce d'Iris, elle ressort nettement des résultats des analyses.

Malgré tout, comme on l'a dit à plusieurs reprises, des con-

AUGEM 128

Augem 28

clusions de cette importance ne sauraient être basées sur de simples analyses ; il est nécessaire, pour dissiper toute incertitude, de préparer les produits à l'état de pureté et d'en faire l'étude comparée.

### I. — Préparation des lévulosanes.

Deux méthodes générales conviennent à la préparation des lévulosanes : les principes étant peu solubles dans l'alcool fort, on peut les préparer en précipitant par l'alcool les sucres d'expression ou les jus de diffusion préalablement déféqués à l'acétate basique de plomb. On peut également les isoler à l'état de composés barytiques insolubles dans l'eau ou tout au moins dans l'alcool faible ; on les régénère ensuite par l'action de l'acide carbonique ou de l'acide sulfurique.

Le second procédé est bien préférable surtout quand le complexe barytique est insoluble dans l'eau : c'est le cas précisément pour celui de l'irisine et de la lévulosane principale du rhizome de l'*Iris foetidissima*. On n'a pas avantage à remplacer la baryte par la chaux dans la préparation de ces principes : car, d'une part, le composé calcique est soluble dans l'eau et ne précipite que par affusion d'alcool, d'autre part, le calcium est moins facile à éliminer que le baryum.

Voici la suite des opérations effectuées pour la préparation de l'irisine à partir du rhizome et des graines de l'Iris des marais (30). On trouvera plus loin les modifications apportées à la technique dans l'extraction des lévulosanes de l'*Iris foetidissima*.

1° Préparation de l'irisine du rhizome et de la graine de l'Iris pseudacorus. — 3 kgr. de rhizomes, récoltés au mois de février, sont épuisés par plusieurs traitements successifs à l'eau bouillante, en présence d'un peu de carbonate de chaux.

Les liqueurs d'extraction, réunies et concentrées, sont déféquées à l'acétate basique de plomb. Après filtration, on obtient trois litres environ de liqueur dont l'analyse donne les résultats suivants :

Sucres réducteurs . . . . .	0,60 p. 100
Saccharose . . . . .	0,50 »
Irisine . . . . .	5,30 »

On ajoute aux liqueurs, à plusieurs reprises, des solutions concentrées de baryte botillantes. Il se fait, chaque fois, un abondant précipité qui est recueilli aussitôt, essoré et lavé. La décomposition de ce précipité par le gaz carbonique étant extrêmement difficile, force est d'avoir recours à l'acide sulfurique. Cette opération est toujours délicate; il faut éliminer avec soin toute trace de baryum sans employer un trop grand excès d'acide; or on n'a pas encore enlevé tout le baryum que déjà les liqueurs commencent à avoir une réaction acide au tournesol; il faut, pour l'éliminer complètement, ajouter de l'acide jusqu'au virage au rouge du méthylorange.

Après avoir neutralisé l'excès d'acide par l'ammoniaque, il n'y a plus qu'à concentrer les liqueurs puis à précipiter l'irisine par l'alcool fort; la lévulosane se sépare sous forme de grumeaux blancs qui s'agglomèrent très vite en masses compactes. La dessiccation du produit n'offre aucune difficulté.

L'irisine obtenue de la sorte est déjà assez pure, exempte de sucre réducteur et de saccharose, et contenant tout au plus 0,52 p. 100 de cendres que l'on peut éliminer en partie soit par dissolution suivie d'une nouvelle précipitation, soit plus simplement par dialyse. Elle se présente sous l'aspect d'une poudre très blanche, sans saveur.

La lévulosane des graines de l'*Iris pseudacorus* se prépare de la même façon que l'irisine du rhizome. Un kilogramme de graines encore molles, récoltées en juillet, au moment où la lévulosane atteint son maximum de concentration, ont été broyées et épuisées par l'eau chaude; les liqueurs d'extraction, réunies et concentrées à un litre, renfermaient: 1,20 de sucres réducteurs, 1,70 de saccharose, et 4,70 de lévulosanes p. 100.

La suite des opérations est la même que précédemment; toutefois, par excès de précaution, on n'a recueilli, pour les décomposer par l'acide sulfurique, que les premières portions du précipité barytique. Les liqueurs, en effet, étant assez riches en saccharose, une certaine quantité de saccharate de baryte pouvait être entraînée, surtout vers la fin de l'opération, avec le complexe barytique de la lévulosane.

On a obtenu une vingtaine de grammes d'une lévulosane exempte de réducteur et de saccharose mais renfermant un peu

plus de cendres que l'irisine du rhizome, soit : 1,12 p. 100.

2° *Préparation des lévulosanes de l'Iris foetidissima.* — En raison de la présence d'amidon, on ne peut songer, pour les rhizomes tout au moins, à épuiser la pulpe par l'eau chaude. Force est de solubiliser les produits dans l'alcool faible, 60°, qui dissout bien, à l'ébullition, la lévulosane en question, tout en respectant l'amidon. Les liqueurs alcooliques renferment évidemment une partie de l'oléo-résine qui communique à l'Iris gigot son odeur caractéristique ; il n'y a pas lieu de s'en préoccuper autrement, le principe oléagineux précipite quand on concentre les liqueurs pour en éliminer l'alcool.

Les extraits concentrés sont ensuite traités de la même manière que précédemment. La précipitation par la baryte, la décomposition du complexe barytique donnent lieu aux mêmes remarques. Les solutions aqueuses, traitées par l'alcool fort, abandonnent le glucide lévogyre sous forme d'une matière fluide plus ou moins hyaline. A cette particularité, on reconnaît un corps très hygroscopique dont la dessiccation exigera de grandes précautions. Sous l'action de la chaleur, le produit humide se boursoufle, se dissout en partie dans l'eau d'interposition et finit par brunir. On évite ces inconvénients en commençant la dessiccation à basse température, de préférence sous pression réduite et en brassant fréquemment la masse. Une fois suffisamment déshydratée pour se laisser pulvériser, la substance supporte, sans changer de couleur, les températures de 120° et de 130°. Elle se présente alors sous forme d'une poudre blanche, amorphe, sans saveur, qui, exposée à l'humidité, reprend rapidement de l'eau en revenant à l'état pâteux.

On a traité trois kilogrammes de rhizomes récoltés en décembre qui ont donné trois litres de liqueur dont voici la composition : 0,50 de sucres réducteurs ; 1,30 de saccharose ; 9,30 de lévulosanes p. 100.

On n'a recueilli que les premières portions des précipités barytiques d'où l'on a pu régénérer 160 grammes environ d'un produit plus pur que l'irisine, ne contenant ni saccharose ni réducteur et dont la teneur en cendres ne dépasse pas 0,36 p. 100.

L'addition répétée de petites quantités d'alcool aux liqueurs résiduelles provoque chaque fois la formation de précipités qui

sont recueillis, décomposés et analysés séparément. Les premiers formés renferment encore une forte proportion de lévulosane barytique, tandis que les derniers sont surtout riches en saccharate de baryte.

Après élimination du baryum, on s'aperçoit vite que la lévulosane, ainsi obtenue n'est pas la même que la première ; elle en diffère notamment par le fait qu'elle est hydrolysée lentement mais complètement par l'invertine.

Il y a donc, dans le rhizome de l'*Iris foetidissima*, deux principes lévogyres dont le second ne se rencontre jamais qu'en faible proportion relativement au premier ; trois kilogs de rhizome n'en ont pas donné plus de quatre à cinq grammes.

Les polyoses lévogyres des feuilles de l'*Iris foetidissima* ont été préparés de la même façon. Deux kilogs de feuilles récoltés en mai, épuisés par l'eau chaude, ont donné définitivement un litre de liqueur dont la composition est la suivante : 3 p. 100 de réducteur, 4 p. 100 de saccharose, 6 p. 100 de lévulosanes dont 0,5 p. 100 hydrolysable par la sucrase. Grâce au fractionnement méthodique des précipités barytiques obtenus successivement dans les solutions aqueuses, puis après affusion d'alcool, il a été possible d'obtenir séparément une vingtaine de grammes de lévulosane non tributaire de l'invertine, exempte de réducteur, de saccharose et d'autres principes, et trois grammes de la lévulosane hydrolysée par la sucrase. Les deux produits ne contenaient pas plus de 1 p. 100 de cendres.

Tous les principes lévogyres, extraits du rhizome ou des feuilles de l'*Iris foetidissima*, se comportent comme des corps uniques et non comme des mélanges. C'est en vain qu'on tente d'en isoler plusieurs glucides.

## II. — Propriétés chimiques et physiques des lévulosanes des Iris.

1° La lévulosane de l'*Iris pseudacorus*. — La lévulosane du rhizome de l'*Iris pseudacorus*, l'irisine de WALLACH, est l'une des plus lévogyres des lévulosanes connues jusqu'alors. Son pouvoir rotatoire, en solution aqueuse, est égal à — 51 pour la

lumière jaune du sodium. Il ne varie pas sensiblement avec la température, non plus qu'avec les concentrations des solutions :

Solution à 1 p. 100,	$\alpha = -1^{\circ}2'$ ,	$l = 2$ ,	$t = 15^{\circ}$ ,	$[\alpha]_D = -51,5$
» à 2 p. 100,	$\alpha = -2^{\circ}2'$ ,	$l = 2$ ,	$t = 10^{\circ}$ ,	$[\alpha]_D = -50,7$
» à 2 p. 100,	$\alpha = -2^{\circ}2'$ ,	$l = 2$ ,	$t = 25^{\circ}$ ,	$[\alpha]_D = -50,7$
» à 4 p. 100,	$\alpha = -4^{\circ}4'$ ,	$l = 2$ ,	$t = 18^{\circ}$ ,	$[\alpha]_D = -50,8$
» à 8 p. 100,	$\alpha = -8^{\circ}10'$ ,	$l = 2$ ,	$t = 17^{\circ}$ ,	$[\alpha]_D = -51,03$

Après hydrolyse, le pouvoir rotatoire tombe à  $-92$ ,  $-93$ , pour la température de  $17^{\circ}$ .

Solution à 2 p. 100,	$\alpha = -3^{\circ}42'$ ,	$l = 2$ ,	$[\alpha]_D = -92$
» à 4 p. 100,	$\alpha = -7^{\circ}26'$ ,	$l = 3$ ,	$[\alpha]_D = -93$

Ces chiffres sont légèrement moins élevés que ceux des anciens auteurs :  $-51^{\circ}54$  à  $-49^{\circ}90$  pour WALLACH (5),  $-52^{\circ}34'$  d'après ECKSTRAUD et JOHANNSON (6),  $-54,13$  à  $-56,05$  d'après KELLER (8).

L'irisine fond vers  $+185^{\circ}$ , au tube capillaire; les anciens auteurs donnaient des chiffres bien différents, ECKSTRAUD et MAUZELIUS (7),  $160^{\circ}$  et WALLACH,  $207^{\circ}$  (5). Ce dernier avoue avoir étudié un « matériel non-privé de cendres », mais il n'a pas jugé utile d'en indiquer la composition. D'ailleurs, il est difficile d'être renseigné exactement sur le point de fusion de substances amorphes qui ne fondent pas sans se décomposer.

La solubilité de l'irisine dans l'eau est assez grande. A  $15^{\circ}$ , 100 grammes d'eau dissolvent 50 grammes du produit. Dans l'alcool à  $60^{\circ}$ , la solubilité est bien plus faible : 2,5 seulement. Les anciens auteurs présentaient l'irisine comme un produit peu soluble dans l'eau — 3 gr. 29 pour 100 grammes d'eau d'après ECKSTRAUD et JOHANNSON (6) — cela n'est pas exact. On peut préparer, sans aucune difficulté, des solutions d'irisine sirupeuses et limpides qui donnent au polarimètre des déviations de  $-25$  à  $-30$  degrés au tube à deux décimètres; il faut seulement s'armer de patience, car l'irisine desséchée ne se dissout dans l'eau froide qu'avec une extrême lenteur.

Les mesures cryométriques permettent d'assigner à ce principe lévogyre un poids moléculaire élevé; en admettant la for-

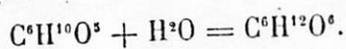
mule  $(C^6H^{10}O^5)^n$ , l'exposant  $n$  serait compris entre 6 et 7. Voici les résultats de deux déterminations :

sur solution aqueuse à 2 p. 100 :  $\Delta = 0,03$ ,  $M = 1226$ ,  $n = 7$   
 sur solution aqueuse à 4 p. 100 :  $\Delta = 0,07$ ,  $M = 1051$ ,  $n = 6,5$ .

Les solutions aqueuses d'irisine ne précipitent pas par les sels des métaux lourds ; elles donnent avec la baryte des combinaisons insolubles dans l'eau ; les composés calciques et strontiques, au contraire, sont parfaitement solubles et ne précipitent que par affusion d'alcool.

Exposée aux vapeurs humides d'acide chlorhydrique, l'irisine, comme d'ailleurs toutes les lévulosanes, prend, au bout de quelques instants, une coloration rouge violacée (31).

Les acides étendus hydrolysent très facilement le produit. Avec l'acide chlorhydrique centinormal, la réaction est terminée, à la température de  $98^\circ$ , en moins d'un quart d'heure. Si l'on évalue avec soin le rendement de l'hydrolyse, on remarque qu'il ne correspond pas exactement à celui qu'indique l'équation théorique :



Les liqueurs hydrolysées réduisent la liqueur de FEHLING à peu près comme le fait une solution de lévulose de même concentration que la solution initiale de lévulosane. On sait que les solutions hydrolysées de triticine et de graminine se comportent de même (32). Tout se passe comme si la formule de ces glucides était  $C^6H^{10}O^5 + H^2O$  et non  $C^6H^{10}O^5$ .

On ne trouve jamais trace de sucre aldéhydique dans les liqueurs d'irisine après hydrolyse. Elles ne fixent pas l'iode en milieu faiblement alcalin ; l'eau de brome ne modifie pas leur pouvoir réducteur. D'ailleurs, le pouvoir rotatoire de l'irisine hydrolysée est le même que celui du lévulose, —  $92$  à la température de  $17^\circ$ . Seul le fructose entre donc dans la constitution de cette lévulosane.

L'irisine, si facilement attaquée par les acides étendus, se montre rebelle à l'action des ferments solubles. La sucrase de la levure, l'émulsine d'amandes, la diastase du malt restent sans effets ; seules les poudres fermentaires de quelques mucé-

dinées, les mêmes qui s'attaquent à l'inuline, parviennent à les hydrolyser.

La lévulosane des graines de l'Iris des marais est, en tous points, identique à celle du rhizome ; on a trouvé pour son pouvoir rotatoire, avant hydrolyse, — 50,8 ; après hydrolyse par les acides, le pouvoir rotatoire descend à — 92 pour la température de 17°. Elle possède toutes les autres propriétés caractéristiques de l'irisine : point de fusion : + 185°, résistance vis-à-vis de la sucrase, etc. C'est donc bien de l'irisine que les graines de l'*Iris pseudacorus* élaborent pendant la première phase de leur développement.

2° *Les lévulosanes de l'Iris foetidissima.* — Le rhizome de cette espèce renferme, on l'a vu, deux lévulosanes dont il convient d'étudier séparément les propriétés. La première, celle qui constitue la majeure partie de la réserve glucidique soluble est beaucoup moins lévogyre que l'irisine. Son pouvoir rotatoire,  $[\alpha]_D$ , est égal à — 29 ; il ne varie ni avec la température, ni avec la concentration des solutions ; on a trouvé :

Solution à 2 p. 100,	$\alpha = -1^{\circ}8'$ ,	$l = 2$ ,	$t = 15^{\circ}$ ,	$[\alpha]_D = -28,8$
» 6 p. 100,	$\alpha = -3^{\circ}30'$ ,	$l = 2$ ,	$t = 17^{\circ}$ ,	$[\alpha]_D = -29$
» 8 p. 100,	$\alpha = -4^{\circ}38'$ ,	$l = 2$ ,	$t = 10^{\circ}$ ,	$[\alpha]_D = -28,8$
» 8 p. 100,	$\alpha = -4^{\circ}36'$ ,	$l = 2$ ,	$t = 25^{\circ}$ ,	$[\alpha]_D = -28,7$

Après hydrolyse, le pouvoir rotatoire tombe à — 80, à la température de 17°, chiffre qui diffère notablement du pouvoir rotatoire de l'irisine hydrolysée et de celui du fructose.

Le point de fusion, au tube capillaire, est voisin de + 151°. Les solubilités du produit dans l'eau et dans l'alcool sont très grandes ; à 15°, 100 grammes d'eau en dissolvent plus de 120 grammes et 100 grammes d'alcool à 60°, environ 30 grammes.

Tout fait croire qu'il s'agit d'un produit bien différent de l'irisine. La détermination des poids moléculaires, par cryoscopie, achève de le démontrer. Voici les résultats de deux expériences :

	Sol. à 5 p. 100	Sol. à 10 p. 100
$\Delta$ . . . . .	0,32	0,62
$M$ . . . . .	287	296

L'abaissement considérable du point de congélation indique qu'il s'agit d'une substance dont le poids moléculaire ne dépasse guère celui du saccharose. On trouve en effet pour le saccharose, dans les mêmes conditions de concentration, les chiffres suivants :

	Sol. à 5 p. 100	Sol. à 10 p. 100
Δ . . . . .	0,30	0,56
M. . . . .	306	320

Le glucide lévogyre de l'*Iris foetidissima* paraît donc être une dilévulosane. On ne connaissait jusqu'ici aucun principe de cette sorte : la triticine et la synanthrine que certaines de leurs propriétés physiques rapprochent du glucide de l'Iris gigot sont des lévulosanes à grosse molécule.

Tout récemment (21) on a montré que l'inuline d'Asphodèle était, comme la lévulosane de l'*Iris foetidissima*, un glucide à petite molécule, probablement une dilévulosane, mais ses pouvoirs rotatoires avant et après hydrolyse ne permettent pas de la confondre avec le glucide de l'*Iris foetidissima*.

En ce qui concerne les combinaisons barytiques strontiques et calciques, l'hydrolyse par les acides étendus et le rendement de l'hydrolyse, le produit donne lieu aux mêmes remarques que l'irisine du *pseudacorus*. On a recherché, en vain, le glucose dans les produits d'hydrolyse et cependant le pouvoir rotatoire des liqueurs n'est pas celui du fructose pur, mais se montre constamment plus élevé,  $[\alpha]_D = -80$ . Cette particularité reste inexplicée ; elle n'est pas d'ailleurs seulement le fait de la lévulosane de l'*Iris foetidissima* ; l'inuline aussi, hydrolysée, a un pouvoir rotatoire qui n'est pas celui du lévulose, et pourtant il n'y a pas de sucre aldéhydique dans ses produits d'hydrolyse.

Comme l'irisine, la lévulosane principale de l'*Iris foetidissima* résiste à l'action de la sucrase et de la plupart des ferments solubles : émulsine, diastase ; les mêmes poudres fermentaires qui hydrolysent l'inuline, attaquent également ce glucide.

Il résulte de tout ce qui précède que nous sommes bien en présence de deux lévulosanes différant profondément entre

elles ; celle de l'*Iris fœtidissima* se distingue nettement de tous les glucides lévogyres préparés jusqu'ici.

Pour ce qui est de la deuxième lévulosane, présente en petite quantité dans le rhizome de l'*Iris fœtidissima* et qui donne avec la baryte une combinaison soluble dans l'eau mais insoluble dans l'alcool, ses propriétés sont voisines de celles de la précédente. On a trouvé, pour son pouvoir rotatoire,  $[\alpha]_D$ , à la température de 17°, — 20, avant hydrolyse, — 78, après hydrolyse. Elle se distingue nettement de la première par le fait que l'invertine l'hydrolyse lentement mais intégralement : la saccharification demande environ 10 jours à la température ordinaire pour des solutions de pH égal à 6.

Les lévulosanes des feuilles de l'*Iris fœtidissima* sont identiques à celles qui viennent d'être décrites et qui proviennent des rhizomes. Il existe, dans les feuilles, une première lévulosane dont les pouvoirs rotatoires, avant et après hydrolyse, sont respectivement égaux à — 28,8 et — 80 à la température de 17°. Le produit fond, au tube capillaire, vers 152°. Les ferments solubles, invertine, émulsine, diastase sont sans action sur lui.

On trouve, à côté de celle-ci, une lévulosane de pouvoir rotatoire égal à — 21, avant hydrolyse, — 80, après hydrolyse ; elle est complètement hydrolysée par l'invertine en 10 jours environ, à la température ordinaire et en milieu de pH égal à 6.

On ne s'attendait pas à constater de telles différences entre l'irisine de l'Iris des marais et les lévulosanes de l'*Iris fœtidissima* ; d'une part un glucide à grosse molécule, fortement lévogyre, assez soluble, de l'autre, des lévulosanes à faible poids moléculaire, peu lévogyres, extrêmement solubles.

Cela fait ressortir, sans qu'il soit besoin de longs commentaires, à quel point on se tromperait en prétendant augurer du chimisme de deux plantes, même très voisines l'une de l'autre, d'après le degré de leur parenté morphologique.