

Det Kgl. Danske Videnskabernes Selskab.

Mathematisk-fysiske Meddelelser. **XIX**, 1.

---

L'HYDROLYSE  
ACIDE ET FERMENTATIVE DES  
GLUCOSIDES- $\beta$

PAR

STIG VEIBEL ET ERLING FREDERIKSEN



KØBENHAVN  
EJNAR MUNKSGAARD

1941

Printed in Denmark.  
Bianco Lunos Bogtrykkeri A/S.

Les glucosides- $\beta$  s'hydrolysent, comme on sait, à la température ambiante sous l'influence des catalyseurs biologiques connus sous le nom d'émulsines ou, avec une détermination plus générale, de  $\beta$ -glucosidase. On sait encore que les glucosides s'hydrolysent aussi sous l'influence des ions hydrogène, mais seulement à des températures si élevées, que toute comparaison directe de l'hydrolyse »enzymatique« et de l'hydrolyse »acide« à une même température est rendue impossible, le catalyseur biologique étant détruit à la température où l'action catalytique des ions hydrogène peut être observée.

Aussi ne trouve-t-on dans la littérature que peu de travaux qui s'occupent d'une telle comparaison. L'examen cinétique de l'hydrolyse acide des glucosides reste, après tout, très incomplet, et les résultats obtenus ne donnent aucune idée générale du mécanisme du procès.

R. KUHN (1) est, autant que nous savons, le premier qui se soit occupé de cette question d'après des idées modernes. KUHN est d'avis qu'en mesurant la vitesse d'hydrolyse d'un glucoside on détermine la décomposition du complexe substrat-catalyseur, pour l'hydrolyse acide aussi bien que pour l'hydrolyse enzymatique, mais il n'a pas déterminé les constantes de dissociation des deux complexes, et par conséquent on ne sait si les concentrations des complexes sont identiques dans les deux cas, même si l'on se sert de solutions d'une même concentration en ce qui concerne le glucoside. KUHN a examiné l'hydrolyse de l'hélicoside, du salicoside, du  $\beta$ -phénylglucoside et du  $\beta$ -méthylglucoside, catalysée soit par l'acide chlorhydrique à 77° soit par l'émulsine à 30°, et

il n'a trouvé aucun parallélisme entre les deux séries de constantes. Il se borne à constater ce fait, en ajoutant seulement qu'il est incapable d'en donner une explication.

JOSEPHSON (2) rappelle des expériences sur l'hydrolyse acide ou enzymatique du saccharose qui ont montré qu'ici les constantes sont les mêmes pour les deux types différents de catalyseurs, mais lui non plus n'a trouvé un tel parallélisme en ce qui concerne les glucosides- $\beta$ ; il ne s'est occupé cependant que superficiellement de la question.

MOELWYN-HUGHES (3) a examiné la question plus à fond. Il appelle l'attention sur le fait que l'énergie d'activation est plus grande pour l'hydrolyse catalysée par des ions hydrogène que pour l'hydrolyse enzymatique. Comme il faut examiner les deux types différents d'hydrolyse à des températures différentes, une comparaison des deux séries de constantes n'est possible que si les énergies d'activation sont connues pour toutes les substances en question. MOELWYN-HUGHES a lui-même déterminé l'énergie d'activation en ce qui concerne l'hydrolyse acide, en examinant la vitesse d'hydrolyse des solutions de glucosides- $\beta$  0,1 m avec de l'acide chlorhydrique 1 m à 80° et à 60°, et il a trouvé pour le  $\beta$ -méthylglucoside  $E = 33730$  cal et, pour le salicoside et pour l'arbutoside, des valeurs un peu inférieures. Il est, comme KUHN, d'avis que c'est la vitesse d'hydrolyse du complexe  $H^+$ -substrat ou enzyme-substrat qu'on détermine, et qu'on est, par conséquent, en droit de comparer les deux séries de constantes, pourvu qu'on tienne bien compte des différences des énergies d'activation.

HELPERICH et ses collaborateurs (4) ont étudié l'hydrolyse fermentative d'une série de glucosides avec des aglucones aromatiques, et ils ont trouvé qu'un point remarquable pour l'hydrolyse fermentative est qu'un phénol-glucoside- $\beta$ , dans lequel un atome d'hydrogène en position ortho vis-à-vis du groupement  $-OH$  a été remplacé par un groupement  $-CH_3$ , est hydrolysé beaucoup plus vite que le glucoside non substitué. Cette différence ne se retrouve pas si l'hydrolyse est catalysée par des ions hydrogène, et HELPERICH en conclut qu'il y a une différence de mécanisme entre les deux types d'hydrolyse. Un des élèves de HELPERICH, M. SCHEIBER (5), exprime cette opinion dans les termes suivants:

» . . . Denn betrachtet man die Werte und Befunde der Ferment- und Säurehydrolyse vom kinetischen Standpunkt, so sind sich beide Wirkungen in ihrer sichtbaren Leistung

— der Spaltung — gleich. Aber unter dem Gesichtspunkt der Spezifitätslehre gesehen, muss man die Säurehydrolyse als ein unspezifisches absolutes Mass desjenigen Energiebetrages auffassen, der notwendig ist, um eine Trennung der Glykosidbindung zu bewerkstelligen. Die Fermenthydrolyse würde demgegenüber — in Bestätigung der klassischen Anschauungen der Ferment-Substratverbindung zugleich — als ein spezifisches, subjektives Verhältnis zwischen Ferment und Substrat erscheinen, mithin ein Vorgang sein, der durch äussere und innere Umstände beeinflussbar ist. Die Konsequenz einer solchen Annahme fordert die Differenz der gefundenen Spaltwerte der Fermenthydrolyse gegenüber den Säurezahlen nach oben wie nach unten, da sowohl eine bessere wie eine schlechtere Spaltbarkeit denkbar ist. Die Versuche bestätigen diese Forderung.«

Comme les expériences de HELFERICH et ses collaborateurs aussi bien que celles de SCHEIBER sont toutes faites à une seule température, et comme l'on n'a point essayé de déterminer les constantes de dissociation des complexes substrat- $\beta$ -glucosidase, le passage cité ci-dessus semble être dénué de sens concret, en ce qui concerne l'énergie d'activation aussi bien qu'en ce qui concerne la spécificité, qui se manifeste dans les valeurs, et des constantes de dissociation des complexes, et des constantes de la vitesse d'hydrolyse des complexes actifs. Pour en tirer quelque sens il faut dire qu'il prouve les difficultés qui se présentent lorsqu'on compare l'hydrolyse acide avec l'hydrolyse fermentative, car dans le premier cas le catalyseur, les ions hydrogène, se trouve dans une concentration très grande par rapport à la concentration du substrat, tandis que dans le second cas c'est le contraire, la concentration du substrat étant très grande par rapport à celle du catalyseur; c'est dire qu'il faut dans les deux cas déterminer avec un très grand soin l'énergie d'activation et si possible les constantes de dissociation des complexes catalyseur-substrat avant qu'une telle comparaison soit possible.

L'un de nous (6, 7, 8), examinant l'hydrolyse fermentative d'une série des glucosides- $\beta$  à aglucone alifatique, a indiqué les énergies d'activation et les constantes de dissociation des complexes  $\beta$ -glucosidase-substrat. Nous décrirons ci-dessous un examen de l'hydrolyse enzymatique de deux

amylglucosides- $\beta$  non examinés jusqu'à présent et des expériences correspondantes pour toute une série de glucosides- $\beta$  où l'hydrolyse a été catalysée par des ions hydrogène. La comparaison entre les deux types d'hydrolyse est donc rendue possible pour ces glucosides, et nous en discuterons plus bas les résultats.

### Partie expérimentale.

1. Substrats. Nous avons examiné les glucosides- $\beta$  des alcools suivants: méthyl-, propyl-, isopropyl-, diéthylcarbinol, triméthylcarbinol, diméthyl-éthylcarbinol (hydrate d'amylène) et butylcarbinol tertiaire (alcool pseudoamylique). La plupart de ces glucosides ont été décrits par VEIBEL et collaborateurs (9, 10). Nous n'avons pas trouvé mentionnés dans la littérature le diéthylcarbinol- $\beta$ -d-glucoside et le pseudoamyl- $\beta$ -d-glucoside; aussi décrirons-nous ici leur préparation et leurs propriétés.

Diéthylcarbinol- $\beta$ -d-glucoside. 226 g d'acétobromoglucose furent surchargés avec 307 g de diéthylcarbinol. 125 g  $\text{CO}_3\text{Ag}_2$  furent ajoutés, et pour faciliter la dissolution de l'acétobromoglucose on ajouta de plus 400—500  $\text{cm}^3$  d'éther éthylique anhydre. Le mélange fut ensuite agité à la machine pendant 3 heures, jusqu'à ce qu'un échantillon eût montré qu'il ne restait trace de l'acétobromoglucose. Le mélange fut alors filtré à la trompe, les sels d'argent furent lavés avec de l'éther éthylique anhydre et les filtrats réunis furent évaporés sous pression réduite. Le tétracétate du glucoside cherché ne tarda pas à cristalliser dans le ballon aussitôt que la plus grande partie du solvant fut éloignée. Il fut recristallisé dans l'alcool éthylique dilué. A l'état de pureté le tétracétate montre F. 109°—110° et  $[\alpha]_D^{20} = -26.9^\circ$  (alcool,  $c = 1.002$ ,  $\alpha^{20} = -0.540^\circ$ ,  $l = 2$ ). Rendement 98 g = 43 %.

96 g du tétracétate furent dissous dans 500  $\text{cm}^3$  d'alcool méthylique, 0.1 g de sodium fut ajouté et la solution fut bouillie à reflux au bain-marie pendant 2 heures (ZEMPLEN et PASCU, (11)). Un échantillon étant alors parfaitement soluble dans de l'eau, la solution fut évaporée sous pression réduite, et le résidu fut recristallisé plusieurs fois dans l'acétate d'éthyle. A l'état de pureté le diéthylcarbinol- $\beta$ -d-glucoside montre F. 130°—131° et  $[\alpha]_D^{20} = -38.0^\circ$  (eau,  $c = 1.016$ ,  $\alpha^{20} = -0.770^\circ$ ,  $l = 2$ ). Rendement 46.5 g = 81 %.

Pseudoamyl- $\beta$ -d-glucoside. L'alcool pseudoamylique a été préparé selon les indications de VEIBEL et ses collaborateurs (12). 180 g d'acétobromoglucose furent dissous dans un mélange de 257 g d'alcool pseudoamylique et de 500—600 cm<sup>3</sup> d'éther éthylique anhydre. 86 g de CO<sub>2</sub>Ag<sub>2</sub> furent ajoutés et le mélange fut agité à la machine pendant 4 heures et demie. Après filtration à la trompe le filtrat fut évaporé sous pression réduite, le résidu fut distillé avec des vapeurs d'eau, de sorte que l'alcool pseudoamylique fut enlevé aussi complètement que possible. Le tétracétate brut du glucoside cherché fut recristallisé dans de l'alcool dilué. A l'état de pureté on trouve F. 134°—135° et  $[\alpha]_D^{20} = -26.9^\circ$  (alcool,  $c = 1.041$ ,  $\alpha^{20} = -0.560^\circ$ ,  $l = 2$ ). Rendement 76 g = 41.5 %.

Le tétracétate (70 g) fut privé des groupes d'acétylène par le procédé ordinaire. Recristallisé dans l'acétate d'éthyle jusqu'au point de fusion constant, le glucoside montre F. 136°—137° et  $[\alpha]_D^{20} = -36.0^\circ$  (eau,  $c = 1.500$ ,  $\alpha^{20} = -1.080^\circ$ ,  $l = 2$ ). Rendement 19.7 g = 47 %.

Méthodique. Dans les expériences décrites ci-dessous la concentration du glucoside a été 0.1 m ou 0.2 m, la concentration de l'acide chlorhydrique a été 1.0 m ou 0.5 m. La température a été maintenue à l'aide d'un thermostat à huile, chauffé électriquement et réglé par un régulateur à mercure; la constance de la température a été  $\pm 0.1^\circ$ .

Pour une expérience on pèse 0.005 ou 0.010 mol du glucoside dans un matras calibré de 25 cm<sup>3</sup>. Le glucoside est dissous dans 20 cm<sup>3</sup> d'eau et l'on place le matras dans le thermostat où se trouvent aussi un matras avec de l'eau, un matras avec de l'acide chlorhydrique 2.0 m ou 1.0 m et un tube de verre Pyrex, contenant environ 50 cm<sup>3</sup>. Après 20 à 30 min. le matras calibré est rempli d'eau jusqu'à la marque. On agite bien le matras pour assurer l'homogénéité du contenu et on le replace dans le thermostat. 20 cm<sup>3</sup> de la solution sont transvasés dans un tube d'essai de verre ordinaire, qui est placé ensuite dans le tube de verre Pyrex (voir fig. 1) et entouré de 20 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique. On

ferme le tube d'un bouchon de caoutchouc et on le laisse dans le thermostat encore 20 à 30 minutes pour assurer l'égalité de température dans les deux solutions. Pour commencer l'expérience le tube d'essai est percé avec un bâton de verre pointu et on mélange bien les deux solutions en

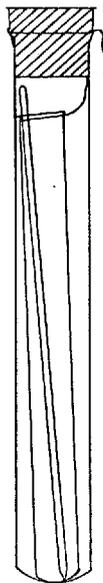


Fig. 1.

se servant du tube troué comme agitateur. Le tube troué est ensuite enlevé, et à distances convenables on prend des échantillons de 5 cm<sup>3</sup> du mélange, qui sont ajoutés à 2 cm<sup>3</sup> d'une solution de carbonate de potasse, 20 % en cas d'acide chlorhydrique 1 m, 10 % en cas d'acide chlorhydrique 0.5 m. L'hydrolyse du glucoside est par cette mesure complètement suspendue. On laisse ensuite l'échantillon pendant 3 heures au moins, afin de laisser à la mutarotation le temps de s'effectuer, et on détermine la rotation de la solution à l'aide d'un polarimètre à champ visuel divisé en trois, permettant la lecture exacte de 0.01°, de sorte qu'on puisse juger 0.005°.

L'un de nous (13) a montré que la rotation spécifique des glucosides et du glucose dépend du  $p_H$  de la solution, de sorte que plus grand est le  $p_H$  de la solution, plus petit est  $[\alpha]_D$  des substances dextrogyres, plus grand est la valeur numérique du  $[\alpha]_D$  des substances lévogyres. C'est pourquoi nous avons examiné si, par le procédé suivi ici, il y a un déplacement de  $[\alpha]_D$ , et nous avons trouvé qu'un tel déplacement n'a pas lieu, le  $p_H$  des échantillons ajoutés à la solution de  $CO_3K_2$  étant 6.6—6.7, c'est-à-dire à peu près neutre, et la rotation spécifique du glucose et des glucosides ne commençant à changer qu'à partir de  $p_H$  8 environ.

Tableau I.

Rotation des solutions des différents glucosides et du glucose,  
0.1 m à des températures différentes, déterminée à 20°.

Substance	Température	
Méthylglucoside .....	90°	— 1.010°
» .....	80°	— 0.990°
» .....	70°	— 0.970°
» .....	60°	— 0.950°
Propylglucoside .....	90°	— 1.320°
» .....	80°	— 1.300°
» .....	70°	— 1.280°
» .....	60°	— 1.260°
Isopropylglucoside .....	90°	— 1.400°
» .....	80°	— 1.370°
» .....	70°	— 1.340°
» .....	60°	— 1.320°
Diéthylcarbinolglucoside .....	80°	— 1.425°
» .....	70°	— 1.400°
» .....	60°	— 1.375°
» .....	50°	— 1.350°
Triméthylcarbinolglucoside .....	50°	— 0.670°
» .....	40°	— 0.665°
» .....	30°	— 0.660°
» .....	20°	— 0.660°
Diméthyl-éthylcarbinolglucoside .....	40°	— 0.645°
» .....	30°	— 0.640°
» .....	20°	— 0.640°
» .....	0°	— 0.640°
Pseudoamylglucoside .....	90°	— 1.375°
» .....	80°	— 1.350°
» .....	70°	— 1.325°
» .....	60°	— 1.305°
Glucose .....	90°	+ 1.410°
» .....	80°	+ 1.390°
» .....	70°	+ 1.375°
» .....	60°	+ 1.360°
» .....	50°	+ 1.350°
» .....	40°	+ 1.340°
» .....	30°	+ 1.335°
» .....	20°	+ 1.330°
» .....	0°	+ 1.330°

Pour tenir compte du fait que c'est à une température élevée que les solutions sont 0.1 m ou 0.2 m en regard du glucoside, tandis que c'est à la température ambiante qu'on détermine la rotation des échantillons, nous avons préparé, des différents glucosides et du glucose, des solutions aqueuses qui sont 0.1 m aux températures en question, et nous en avons déterminé les rotations en retirant des échantillons de 5 cm<sup>3</sup> à la température élevée et en les ajoutant à 2 cm<sup>3</sup> d'eau. Les valeurs de la rotation des échantillons trouvés ainsi sont les valeurs initiales (les solutions des glucosides) ou la valeur finale (la solution de glucose) de la rotation dans les différentes expériences; nous donnons ces valeurs dans le tableau I.

Dans les tableaux suivants les constantes de vitesse sont calculées du temps zéro jusqu'au temps t avec la minute comme unité de temps et avec des logarithmes à base 10.

Tableau II.

n-Propylglucoside 0.1 m. HCl 0.996 m. 80°.

$$\alpha_{\text{init.}} = -1.300^{\circ}. \quad \alpha_{\text{fin.}} = +1.390^{\circ}.$$

t min	$\alpha_{\text{obs}}$	x	c - x	$k \cdot 10^4$	v	k · v
0	-1.300	—	2.690	—	—	—
15	-1.130	0.170	2.520	18.9	0.0252	0.475
30	-0.960	0.340	2.350	19.6	0.0447	0.874
60	-0.640	0.660	2.030	20.4	0.0696	1.417
120	-0.140	1.160	1.530	20.4	0.0793	1.619
180	+0.240	1.540	1.150	20.5	0.0674	1.381
240	+0.530	1.830	0.860	20.6	0.0505	1.042
$\frac{\Sigma k \cdot v}{\Sigma v} = 20.2.$				20.1	0.3367	6.808

En ce qui concerne les valeurs moyennes des constantes, nous nous sommes servis d'une méthode, proposée par M. J. A. CHRISTIANSEN (13 a), d'après laquelle le poids qu'il faut attribuer aux déterminations particulières des constantes est calculé d'après l'équation

$$v = -\text{const.} (1-x')^2 \log(1-x'), \quad [1]$$

$x'$  étant  $\frac{x_t}{(c-x)_0}$ , c'est-à-dire la fraction du substrat qui a été hydrolysée au temps  $t$  de la détermination en question. La valeur moyenne de la constante  $k$  est alors

$$k = \frac{\sum k \cdot v}{\sum v}. \quad [2]$$

Voici quelques exemples.

Tableau III.

Isopropylglucoside 0.1 m. HCl 1.002 m. 70°.

$$\alpha_{\text{init.}} = +1.340^\circ. \quad \alpha_{\text{fin.}} = +1.375^\circ.$$

t min	$\alpha_{\text{obs}}$	x	c-x	$k \cdot 10^4$	v	k · v
0	-1.340	—	2.715	—	—	—
30	-1.210	0.130	2.585	7.10	0.0193	0.1372
60	-1.060	0.280	2.435	7.88	0.0380	0.2998
120	-0.790	0.550	2.165	8.19	0.0625	0.5169
180	-0.540	0.800	1.915	8.42	0.0754	0.6351
240	-0.310	1.030	1.685	8.63	0.0798	0.6890
360	+0.060	1.400	1.315	8.75	0.0739	0.6460
480	+0.350	1.690	1.025	8.82	0.0603	0.5316
				8.26	0.4092	3.4556

$$\frac{\sum k \cdot v}{\sum v} = 8.44.$$

Tableau IV.

Triméthylcarbinolglucoside 0.1 m. HCl 0.5005 m. 40°.

$$\alpha_{\text{init.}} = -0.665^\circ. \quad \alpha_{\text{fin.}} = +1.340^\circ.$$

t min	$\alpha_{\text{obs}}$	x	c-x	$k \cdot 10^4$	v	k · v
0	-0.665	—	2.005	—	—	—
30	-0.540	0.125	1.880	9.33	0.0246	0.2298
60	-0.440	0.225	1.780	8.62	0.0407	0.3511
90	-0.330	0.335	1.670	8.82	0.0551	0.4858
150	-0.090	0.575	1.430	9.79	0.0747	0.7307
210	+0.080	0.745	1.260	9.61	0.0797	0.7654
300	+0.310	0.975	1.030	9.64	0.0763	0.7360
420	+0.580	1.245	0.760	10.03	0.0605	0.6072
				9.41	0.4116	3.9060

$$\frac{\sum k \cdot v}{\sum v} = 9.49.$$

Tableau V.

Diméthyléthylcarbinolglucoside 0.1 m. HCl 0.996 m. 40°.

$$\alpha_{\text{init.}} = -0.645^\circ. \quad \alpha_{\text{fin.}} = +1.340^\circ.$$

t min	$\alpha_{\text{obs}}$	x	c-x	$k \cdot 10^4$	v	k · v
0	-0.645	—	1.985	—	—	—
5	-0.410	0.235	1.750	119.6	0.0452	5.41
11	-1.180	0.465	1.520	110.6	0.0694	7.68
15	-0.040	0.605	1.380	109.6	0.0771	8.45
25	+0.280	0.925	1.060	109.8	0.0771	8.46
50	+0.760	1.405	0.580	109.9	0.0437	4.81
90	+1.120	1.755	0.230	108.4	0.0110	1.19
				111.3	0.3235	36.00
				$\frac{\Sigma k \cdot v}{\Sigma v} = 111.3.$		

Tableau VI.

Pseudoamylglucoside 0.1 m. HCl 1.005 m. 70°.

$$\alpha_{\text{init.}} = -1.325^\circ. \quad \alpha_{\text{fin.}} = +1.375^\circ.$$

t min	$\alpha_{\text{obs}}$	x	c-x	$k \cdot 10^4$	v	k · v
0	-1.325	—	2.700	—	—	—
30	-1.240	0.085	2.615	4.67	0.0131	0.0613
60	-1.140	0.185	2.515	5.13	0.0267	0.1373
120	-0.900	0.425	2.275	6.20	0.0528	0.3275
180	-0.700	0.625	2.075	6.36	0.0675	0.4292
240	-0.490	0.835	1.865	6.70	0.0767	0.5133
360	-0.170	1.155	1.545	6.74	0.0795	0.5352
540	+0.260	1.585	1.115	7.11	0.0655	0.4658
				6.13	0.3818	2.4696
				$\frac{\Sigma k \cdot v}{\Sigma v} = 6.47.$		

Hydrolyse fermentative du diméthyléthylcarbinol- $\beta$ -d-glucoside, du diéthylcarbinol- $\beta$ -d-glucoside et du pseudoamyl- $\beta$ -d-glucoside. L'hydrolyse fermentative de ces glucosides n'étant pas examinée du tout ou n'étant examinée que préliminairement, nous tenons à donner ici les données expérimentales permettant la détermination des constantes de la vitesse d'hydrolyse  $k_{\text{obs}}$  et des constantes d'affinité  $K_m$  pour les trois glucosides, ainsi que la détermination des constantes d'affinité  $K_m$ , pour les alcools contenus dans les deux derniers glucosides,

Tableau VII.

Hydrolyse des glucosides- $\beta$  0.1 m avec HCl 1.0 m.

Glucoside	Valeur de $k \cdot 10^4$ à diverses températures.									
	0°	20°	30°	40°	50°	60°	70°	80°	90°	
Méthyl .....						0.91	3.93	14.63	53.5	
Propyl .....						1.20	5.27	20.30	69.0	
Isopropyl .....						2.06	8.42	33.9	113.5	
Diéthylcarbinol .....					0.74	3.08	13.37	48.1		
Triméthylcarbinol .....	0.85	4.97	26.0	116.3						
Diméthyléthylcarb. ....	0.098	4.25	23.0	111.7						
Pseudoamyl .....						1.74	6.44	25.9	89.5	

Tableau VIII.

Hydrolyse des glucosides- $\beta$  0.1 m avec HCl 0.5 m.

Glucoside	Valeur de $k \cdot 10^4$ à diverses températures.				
	30°	40°	50°	70°	80°
Méthyl .....				1.51	6.02
Propyl .....				1.86	7.77
Isopropyl .....				3.09	13.10
Diéthylcarbinol .....				5.05	19.03
Triméthylcarbinol .....		9.48	42.8		
Diméthyléthylcarbinol .....	8.13	39.6			

Tableau IX.

Hydrolyse des glucosides- $\beta$  0.1 m et 0.2 m avec HCl 1.0 m.

Glucoside	$k \cdot 10^4$	
	0.1 m	0.2 m
Propyl, 80° .....	20.3	20.1
Isopropyl, 80° .....	33.9	32.8
Diméthyléthylcarbinol, 40° .....	111.7	105.7

de sorte qu'on puisse calculer les valeurs correspondantes de  $k_3$ , les constantes de la vitesse d'hydrolyse des complexes ferment-glucoside. Pour  $K_{m_1}$ , la constante d'affinité du glucose, la valeur 0.18 déterminée antérieurement (8) a été introduite.

La technique employée a été celle indiquée par VEIBEL et ERIKSEN (7), c'est-à-dire qu'on a dissous le glucoside dans une solution tampon d'acétate, 0.1 m, à  $p_H$  4.4. A l'aide de cette solu-

Tableau X.

Diméthyléthylcarbinol-glucoside. Hydrolyse fermentative.  
 30°. Glucoside 0.0400 m. Émulsine 0.1324 g dans 50 cm<sup>3</sup>.  
 sal. f. = 0.34. 1 cm<sup>3</sup> de toluène ajouté à 50 cm<sup>3</sup>.

$$\alpha_{\text{init.}} = -0.345^\circ. \quad \alpha_{\text{fin.}} = +0.620^\circ. \quad \alpha_{\text{Émulsine}} = -0.195^\circ.$$

t min	$\alpha_{\text{obs}}$	x	c-x	$k \cdot 10^4$
0	-0.540	—	0.945	—
180	-0.445	0.095	0.850	2.56
360	-0.360	0.180	0.765	2.54
540	-0.285	0.255	0.690	2.49
720	-0.215	0.325	0.620	2.58
			moyenne...	2.54

$$k_{\text{obs}}/e (\text{sal. f.}) = 0.56 \cdot 10^{-2}.$$

Tableau XI.

Diméthyléthylcarbinol-glucoside. Détermination de  $K_m$ .

e = 0.1324 g dans 50 cm<sup>3</sup>. sal. f. = 0.34.

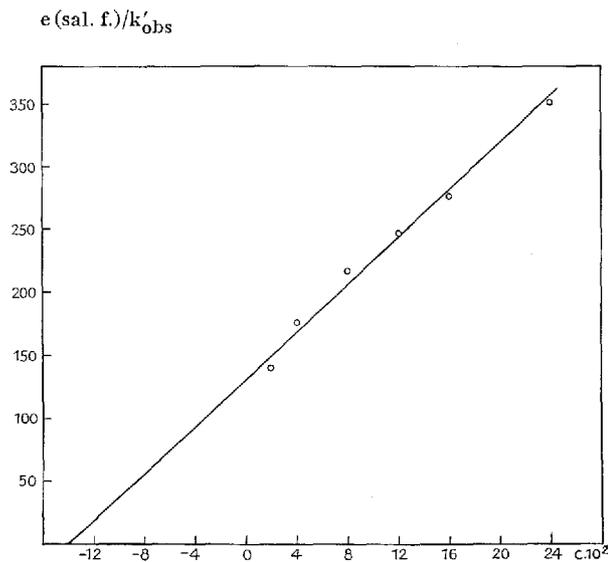
1 cm<sup>3</sup> de toluène ajouté à 50 cm<sup>3</sup>.

c	$10^4 \cdot k'_{\text{obs}}$	e (sal. f.)/ $k'_{\text{obs}}$	$10^4 \cdot k'_{\text{obs}} (K_m + e)$ = $10^4 \cdot k_3 \cdot e (\text{sal. f.})$
0.0200	3.20	140.7	0.51
0.0400	2.55	176.5	0.46
0.0800	2.07	217.4	0.46
0.1200	1.83	246.0	0.48
0.1600	1.63	276.2	0.49
0.2400	1.28	351.7	0.49
			moyenne... 0.48

$$K_m = 0.14 \text{ (voir fig. 2).}$$

$$k_3 = 0.11 \cdot 10^{-2}.$$

tion et d'une solution aqueuse d'une préparation d'émulsine à force enzymatique (sal. f.) connue, les deux solutions étant placées dans un thermostat à 30°, on a fait des mélanges qui sont 0.04 m en regard du glucoside (ou pour la détermination de  $K_m$  une série de concentrations variées), et qui contiennent de plus une quantité connue du ferment. Pour la détermination de  $K_m$ , on s'est servi d'une série de mélanges qui sont 0.04 m en regard

Fig. 2. Diméthyléthylcarbinol-glucoside. Détermination de  $K_m$ .

## Tableau XII.

Diéthylcarbinol-glucoside. Détermination de  $K_m$ . $e = 0.0069$ . sal. f. = 0.078.

$c$	$10^4 \cdot k'_{\text{obs}}$	$10^2 \cdot e \cdot \text{sal. f.}/k'_{\text{obs}}$
0.01	22.45	24.2
0.02	19.44	27.7
0.03	15.04	35.8
0.04	12.96	41.5
0.06	8.80	61.2
0.10	6.17	87.2

 $K_m = 0.020$  (voir fig. 3).

du glucoside, mais qui contiennent en plus l'alcool en question dans des concentrations croissantes.

Pour tous ces mélanges les constantes de la vitesse d'hydrolyse sont déterminées en retirant des échantillons de 5 cm<sup>3</sup> à distances convenables et en les ajoutant à 1 cm<sup>3</sup> d'une solution de CO<sub>2</sub>K<sub>2</sub> de 20 %, suspendant ainsi toute hydrolyse fermentative. Le p<sub>H</sub> des échantillons est ainsi porté de 4.4 à 10.6–10.7, et en déterminant la rotation des échantillons il faut considérer qu'à

## Tableau XIII.

Diéthylcarbinol-glucoside. Détermination de  $K_{m_2}$ . $c = 0.0400$ .  $K_m = 0.020$ .  $e = 0.0128$ . sal. f. = 0.078.

$k_{\text{obs}}$	$c_{\text{alcool}}$	$k_{\text{obs}}/k_{\text{obs}_{\text{alc}}}$	$\frac{(k_{\text{obs}}/k_{\text{obs}_{\text{alc}}}) - 1}{c_{\text{alcool}}}$
24.33	0.00	—	—
21.04	0.01	1.157	15.7
18.58	0.02	1.309	15.5
15.63	0.04	1.556	14.4
11.21	0.08	2.170	14.6
9.13	0.12	2.665	13.9
moyenne...			14.8

$$K_{m_2} = \frac{0.020 \cdot 1}{0.060 \cdot 14.8} = 0.022.$$

## Tableau XIV.

Diéthylcarbinol-glucoside. Hydrolyse fermentative. 30°.

Glucoside 0.0400 m. Émulsine 0.0064 g dans 50 cm<sup>3</sup>.

sal. f. = 0.078.

 $\alpha_{\text{init.}} = -0.640^\circ$ .  $\alpha_{\text{fin.}} = +0.620^\circ$ .  $\alpha_{\text{émulsine}} = -0.010^\circ$ . $K_m = 0.020$ .  $K_{m_1} = 0.18$ .  $K_{m_2} = 0.022$ . $(K_m/K_{m_1} + K_m/K_{m_2} - 1) = 0.02$ .

t min	$\alpha_{\text{obs}}$	x	c-x	$10^4 \cdot k_{\text{obs}}$	$10^4 \cdot k_3 \cdot e$ (sal. f.)
0	-0.650	—	1.260	—	—
20	-0.570	0.080	1.180	14.25	0.856
40	-0.520	0.130	1.130	9.40	0.565
60	-0.450	0.200	1.060	13.90	0.835
90	-0.390	0.260	1.000	8.43	0.508
120	-0.320	0.330	0.930	10.50	0.632
150	-0.250	0.400	0.860	11.33	0.683
180	-0.190	0.460	0.800	10.47	0.632
240	-0.090	0.560	0.700	9.67	0.584
300	+0.010	0.660	0.600	11.15	0.678
moyenne...				11.0	0.66

$$10^2 \cdot k/e \text{ (sal. f.)} = 220.$$

$$10^2 \cdot k_3 = 13.3.$$

$$10^2 \cdot e(\text{sal. f.})/k'_{\text{obs}}$$

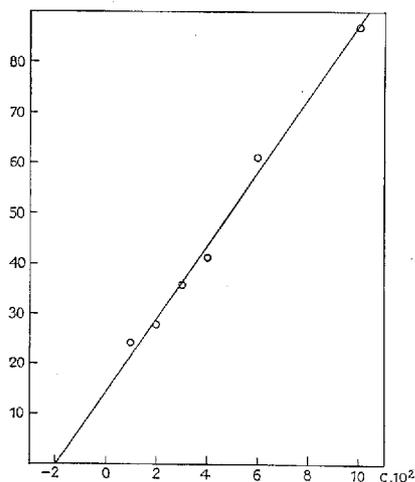
Fig. 3. Diéthylcarbinol-glucoside. Détermination de  $K_m$ .

Tableau XV.

Diéthylcarbinol-glucoside. Hydrolyse fermentative.  $20^\circ$ .Glucoside 0.0400 m. Émulsine 0.0128 g dans  $50 \text{ cm}^3$ .

sal. f. = 0.078.

$$\alpha_{\text{init.}} = -0.640^\circ. \quad \alpha_{\text{fin.}} = +0.620^\circ. \quad \alpha_{\text{Emulsine}} = -0.020^\circ.$$

$$K_m = 0.020. \quad K_{m_1} = 0.18. \quad K_{m_2} = 0.022.$$

$$(K_m/K_{m_1} + K_m/K_{m_2} - 1) = 0.02.$$

t min	$\alpha_{\text{obs}}$	x	c - x	$10^4 \cdot k_{\text{obs}}$	$10^4 \cdot k_3 \cdot e(\text{sal. f.})$
0	-0.660	—	1.260	—	—
20	-0.590	0.070	1.190	12.46	0.748
40	-0.530	0.130	1.130	10.70	0.643
60	-0.480	0.180	1.080	9.85	0.592
90	-0.370	0.290	0.970	15.53	0.935
120	-0.300	0.360	0.900	10.86	0.654
150	-0.225	0.435	0.825	12.57	0.758
180	-0.160	0.500	0.760	11.91	0.718
240	-0.040	0.620	0.640	12.43	0.751
360	+0.060	0.720	0.540	12.30	0.744
moyenne...				12.1	0.73

$$10^2 \cdot k_{\text{obs}}/e(\text{sal. f.}) = 121.$$

$$10^2 \cdot k_3 = 7.3.$$

$$k_{3_{30}}/k_{3_{20}} = 1.82.$$

Tableau XVI.

Pseudoamyl-glucoside. Détermination de  $K_m$ .

$$e = 0.0475. \text{ sal. f.} = 0.23.$$

c	$10^4 \cdot k'_{\text{obs}}$	$e \cdot \text{sal. f.} / k'_{\text{obs}}$
0.02	7.94	13.8
0.04	5.20	21.0
0.08	3.80	28.8
0.12	2.84	38.5
0.16	2.28	47.9
0.24	1.76	62.1

$$K_m = 0.046 \text{ (voir fig. 4).}$$

Tableau XVII.

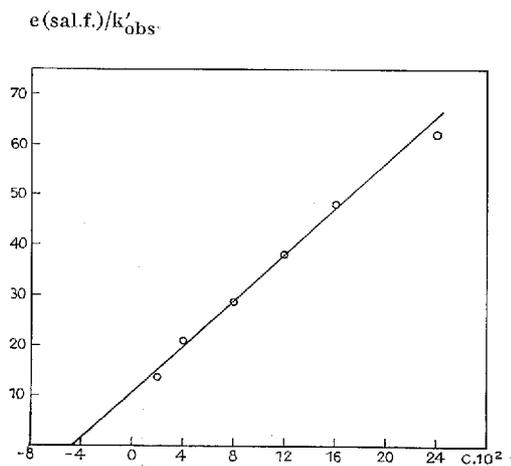
Pseudoamyl-glucoside. Détermination de  $K_{m_2}$ .

$$c = 0.0400. K_m = 0.046. e = 0.1171. \text{ sal. f.} = 0.23.$$

$k_{\text{obs}}$	$c_{\text{alcool}}$	$k_{\text{obs}}/k_{\text{obs}_{\text{alc}}}$	$\frac{(k_{\text{obs}}/k_{\text{obs}_{\text{alc}}}) - 1}{c_{\text{alcool}}}$
12.4	0.00	—	—
11.6	0.01	1.069	6.9
11.1	0.02	1.117	5.9
10.0	0.04	1.240	6.0
9.3	0.08	1.333	4.2
8.5	0.12	1.459	3.8
moyenne...			5.4

$$K_{m_2} = \frac{0.046 \cdot 1}{0.086 \cdot 5.4} = 0.099.$$

ce  $p_H$  les rotations spécifiques, et des glucosides et du glucose, sont tournées de 3—4 % à gauche, et que la rotation d'une solution de glucose, qui est maintenue à ce  $p_H$ , se modifie avec le temps, la modification étant, pour une solution 0.1 m, de  $0.0033^\circ$  par heure (VEIBEL et ERIKSEN (13)). Les constantes  $k_{\text{obs}}$  sont calculées de point en point (unité de temps: minute; logarithmes à base 10); en ce qui concerne les expériences destinées à la détermination de  $K_m$ , on calcule de plus les valeurs de  $k'_{\text{obs}}$ , les constantes de la vitesse d'hydrolyse calculées non pas de point en

Fig. 4. Pseudoamyl-glucoside. Détermination de  $K_m$ .

## Tableau XVIII.

Pseudoamylglucoside. Hydrolyse fermentative.  $30^\circ$ .  
 Glucoside 0.0400 m. Émulsine 0.2415 g dans  $50 \text{ cm}^3$ .  
 sal. f. = 0.23.

$$\alpha_{\text{init.}} = -0.620^\circ. \alpha_{\text{fin.}} = +0.620^\circ. \alpha_{\text{Émulsine}} = -0.420^\circ.$$

$$K_m = 0.046. K_{m_1} = 0.18. K_{m_2} = 0.099.$$

$$(K_m/K_{m_1} + K_m/K_{m_2} - 1) = -0.28.$$

t min	$\alpha_{\text{obs}}$	x	c-x	$10^4 \cdot k_{\text{obs}}$	$10^4 \cdot k_3 \cdot e(\text{sal. f.})$
0	-1.040	—	1.240	—	—
20	-0.920	0.120	1.120	22.1	1.89
40	-0.805	0.235	1.005	23.0	1.94
60	-0.700	0.340	0.900	24.0	2.00
90	-0.560	0.480	0.760	24.5	2.02
120	-0.435	0.605	0.635	26.0	2.11
150	-0.325	0.715	0.525	27.5	2.20
180	-0.235	0.805	0.435	27.2	2.15
240	-0.100	0.940	0.300	26.9	2.10
300	+0.010	1.050	0.190	33.1	2.55
moyenne...				25.2	2.11

$$10^2 \cdot k_{\text{obs}}/e(\text{sal. f.}) = 4.54.$$

$$10^2 \cdot k_3 = 0.39.$$

## Tableau XIX.

Pseudoamyl-glucoside. Hydrolyse fermentative. 20°.  
 Glucoside 0.0400 m. Émulsine 0.4576 g dans 50 cm<sup>3</sup>.  
 sal. f. = 0.23.

$$\alpha_{\text{init.}} = -0.620^\circ. \quad \alpha_{\text{fin.}} = +0.620^\circ. \quad \alpha_{\text{Émulsine}} = -0.84^\circ.$$

$$K_m = 0.046. \quad K_{m_1} = 0.18. \quad K_{m_2} = 0.099.$$

$$(K_m/K_{m_1} + K_m/K_{m_2} - 1) = -0.28.$$

t min	$\alpha_{\text{obs}}$	x	c - x	$10^4 \cdot k_{\text{obs}}$	$10^4 \cdot k_3 \cdot e$ (sal. f.)
0	-1.460	—	1.240	—	—
20	-1.355	0.105	1.135	19.2	1.64
40	-1.260	0.200	1.040	18.6	1.57
60	-1.180	0.280	0.960	17.4	1.46
90	-1.070	0.390	0.850	18.0	1.49
120	-0.965	0.495	0.745	19.1	1.56
150	-0.875	0.585	0.655	18.6	1.51
180	-0.805	0.655	0.585	16.4	1.32
240	-0.680	0.780	0.460	17.4	1.38
300	-0.585	0.875	0.365	16.7	1.31

moyenne... 17.9 1.47

$$10^2 \cdot k_{\text{obs}}/e \text{ (sal. f.)} = 1.70. \quad 10^2 \cdot k_3 = 0.14. \quad k_{3_{30}}/k_{3_{20}} = 2.78.$$

point, mais du temps zéro jusqu'au temps t. Des valeurs de  $k_{\text{obs}}$  et  $k'_{\text{obs}}$  on peut calculer  $K_m$ ,  $K_{m_2}$  et  $k_3$  d'après les expressions suivantes (VEIBEL et LILLELUND (8)):

$$k'_{\text{obs}} (K_m + c) = \text{const.} \quad \text{ou} \quad 1/k'_{\text{obs}} \cdot \text{const.} = K_m + c \quad [3]$$

$$K_{m_2} = \frac{K_m \cdot c_{\text{alcool}}}{(K_m + c) (k_{\text{obs}}/k_{\text{obsalc}} - 1)} \quad [4]$$

$$k_3 = k_{\text{obs}} (K_m + c + (K_m/K_{m_1} + K_m/K_{m_2} - 1) x)/e \text{ (sal. f.)}, \quad [5]$$

$e$  étant la quantité du ferment qui se trouve dans 50 cm<sup>3</sup> de la solution.

L'équation [3] peut être appliquée pour la détermination graphique de  $K_m$ . Des valeurs correspondantes de  $1/k'_{\text{obs}}$  et  $c$  déterminent une ligne droite, dont le point de section avec l'axe d'abscisse est  $-K_m$ . Par la détermination graphique les inexactitudes des déterminations particulières de  $k'_{\text{obs}}$  sont partiellement égalisées.

Tableau XX.

Hydrolyse fermentative des glucosides- $\beta$ . 0.0400 m.

30° et 20°.

Alcool	$10^3 \cdot k_{\text{obs}}/e$ (sal. f.)		$K_m$	$K_{m_s}$	$10^2 \cdot k_3$	
	30°	20°			30°	20°
Méthyl .....	2.7	1.35	0.62	( $\infty$ )	1.89	0.94
Propyl .....	22.6	11.3	0.16	0.18	5.08	2.34
Isopropyl .....	16.9	7.9	0.40	0.41	7.51	3.62
Diéthylcarbinol .....	220	121	0.020	0.022	13.5	7.3
Triméthylcarbinol....	0.03	—	1.46	0.37	(0.05)	—
Diméthyléthylcarbinol	0.56	—	0.14	—	(0.11)	—
Pseudoamyl .....	4.54	1.70	0.046	0.099	0.39	0.14

Nous n'avons pas déterminé la valeur de  $K_{m_s}$ , la constante d'affinité de l'hydrate d'amylène; pour la détermination de  $k_3$  en cas de glucoside de l'hydrate d'amylène il faut donc se servir de l'équation [3]:  $k_3 = k'_{\text{obs}}(K_m + c)$ , qui donne une valeur approximative de  $k_3$ . En appliquant les valeurs de  $k'_{\text{obs}}$  indiquées dans le tableau XI, on obtient, tout de même, une approximation assez bonne, car dans ces expériences c'est seulement la phase initiale de l'hydrolyse qu'on a suivie; l'action inhibitive des produits d'hydrolyse n'est par conséquent que faible. Dans le tableau XI nous avons réuni les valeurs calculées pour  $k_3 \cdot e$  (sal. f.) pour toutes les concentrations du glucoside examinées, ainsi que la valeur moyenne de  $k_3$ .

Il faut se souvenir que dans toutes les expériences avec le glucoside de l'hydrate d'amylène on a ajouté aux solutions du toluène afin d'empêcher le développement des microorganismes. Les valeurs de  $k'_{\text{obs}}$  et de  $k_3$  ne sont donc plus directement comparables avec les valeurs correspondantes trouvées pour d'autres glucosides sans application de toluène, car l'addition du toluène tend à augmenter la force enzymatique apparente du ferment (VEIBEL (14)).

### Discussion.

Une comparaison des tableaux VII—IX d'une part et du tableau XX de l'autre va montrer qu'il y a une différence essentielle entre l'hydrolyse catalysée par des ions hydrogène et celle catalysée par le ferment  $\beta$ -glucosidase. En ce qui concerne l'hydrolyse acide les constantes de vitesse sont du même ordre de grandeur pour les glucosides des alcools primaires et secondaires, tandis que les constantes de vitesse des glucosides des alcools tertiaires sont supérieures aux autres de plusieurs ordres de grandeur. D'autre part, en ce qui concerne l'hydrolyse fermentative, bien que les constantes de vitesse soient du même ordre de grandeur pour les glucosides des alcools primaires et secondaires, celles des glucosides des alcools tertiaires sont inférieures aux autres de un ou de deux ordres de grandeur. Il ne s'agit pas seulement d'un empêchement stérique, car le diméthyl-éthyl-carbinol-glucoside est hydrolysé plus vite que le triméthyl-carbinol-glucoside, et notamment aussi bien quand l'hydrolyse est catalysée par des ions hydrogène que quand elle est catalysée par le  $\beta$ -glucosidase.

Une comparaison des tableaux VII et VIII montre qu'en cas d'hydrolyse acide il y a une dépendance de la concentration des ions hydrogène ou peut-être de l'activité de ces ions. L'activité des ions hydrogène dans des solutions d'acide chlorhydrique 1.0 m ou 0.5 m à 80° et à 70° n'étant pas connue, nous nous sommes servis des activités correspondantes à 25°, qui sont, d'après DUBOUX (15), 1.57 et 0.57. Le rapport entre ces deux activités est 2.75, tandis que LEININGER et KILPATRICK (16) ont calculé, pour le rapport entre les valeurs de  $k_{\text{H}_3\text{O}^+}$  pour 1.0 m HCl et 0.5 m HCl, la valeur 1.317 ( $k_{\text{H}_3\text{O}^+}$  étant  $k_{\text{obs}}/c_{\text{H}_3\text{O}^+}$ ), ce qui donne

$k_{\text{obs } 1.0 \text{ m}}/k_{\text{obs } 0.5 \text{ m}} = 2.63$ . Expérimentalement (hydrolyse du saccharose) ils ont trouvé 2.79. Ces chiffres sont valables à 0°. Le rapport calculé diminue avec une température croissante; à 40° on calcule 1.232 ou pour  $k_{\text{obs } 1.0 \text{ m}}/k_{\text{obs } 0.5 \text{ m}}$  la valeur 2.46.

L'explication donnée par LEININGER et KILPATRICK étant considérée comme correcte, il faut en conclure que, à condition que l'hydrolyse acide des glucosides, comme celle du saccharose, soit catalysée par des ions hydrogène, on trouvera dans une solution 0.5 m en ce qui concerne HCl et en même temps 0.5 m en ce qui concerne KCl à peu près le même effet causé par la présence des électrolytes que celui qu'on trouve dans une solution 1.0 m en ce qui concerne HCl.

Des expériences préliminaires sur l'hydrolyse acide du glucoside de l'hydrate d'amylène ont montré que le rapport  $k_{\text{obs } 0.5 \text{ m HCl} + 0.5 \text{ m KCl}}/k_{\text{obs } 0.5 \text{ m HCl}}$  est 1.31, tandis que  $k_{\text{obs } 1.0 \text{ HCl}}/k_{\text{obs } 0.5 \text{ HCl}}$  est 2.70, c'est-à-dire que l'effet causé par la présence des électrolytes peut être exprimé dans le dernier cas par le facteur 1.35.

Le tableau IX montre que la vitesse d'hydrolyse est directement proportionnelle à la concentration du glucoside, les constantes de vitesse étant les mêmes pour des solutions 0.1 m et 0.2 m à l'égard du glucoside.

Dans le tableau XXI nous donnons les valeurs des constantes, recalculées avec des logarithmes naturelles et avec la seconde comme unité de temps. Dans le tableau sont indiqués en plus le rapport entre les constantes trouvées avec de l'acide chlorhydrique 1.0 m et 0.5 m ainsi que la valeur de ce rapport calculé d'après une extrapolation des données de LEININGER et KILPATRICK (16) mentionnées plus haut. L'extrapolation est faite graphiquement, voir fig. 5.

On voit que, bien que les valeurs trouvées par nous pour les glucosides ne soient pas coïncidentes avec les valeurs calculées pour le saccharose par LEININGER et KILPATRICK, on trouve ici la même variation du rapport avec la tem-

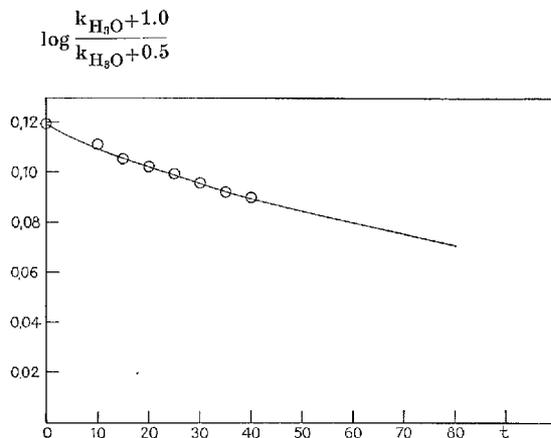


Fig. 5.

pérature que celle qu'on a calculée et trouvée pour l'hydrolyse du saccharose.

Dans le tableau XXII nous indiquons les valeurs de l'énergie d'activation trouvées pour l'hydrolyse des glucosides à des températures différentes, calculées d'après l'équation  $Q = R \cdot \frac{T_1 \cdot T_2}{T_1 - T_2} \cdot \ln \frac{k_{T_1}}{k_{T_2}}$ . On voit que l'exactitude des expériences ne suffit pas pour la constatation d'une variation éventuelle de l'énergie d'activation avec la température. Quant à l'influence de la concentration de l'acide chlorhydrique il semble, par contre, que l'exactitude soit suffisante pour démontrer une diminution de l'énergie d'activation avec une concentration croissante de l'acide, même effet que LEININGER et KILPATRICK ont trouvé pour l'hydrolyse du saccharose.

Tableau XXI.

Hydrolyse acide des glucosides- $\beta$  à diverses températures.  
Valeurs de  $10^5 \cdot k$  (logarithmes naturelles, unité de temps :  
seconde).

	Méthylglucoside 1.0 m HCl	Méthylglucoside 0.5 m HCl	Propylglucoside 1.0 m HCl	Propylglucoside 0.5 m HCl	Isopropylglucoside 1.0 m HCl	Isopropylglucoside 0.5 m HCl	Diéthylcarbinolglucoside 1.0 m HCl	Diéthylcarbinolglucoside 0.5 m HCl	Triméthylcarbinolglucoside 1.0 m HCl	Triméthylcarbinolglucoside 0.5 m HCl	Diméthyléthylcarbinolglucoside 1.0 m HCl	Diméthyléthylcarbinolglucoside 0.5 m HCl	Pseudoamylglucoside 1.0 m HCl
$k \cdot 10^5$													
0°	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	0.038	..	..
20°	..	..	..	..	..	..	..	..	0.33	..	1.63	..	..
30°	..	..	..	..	..	..	..	..	1.91	..	8.82	3.12	..
40°	..	..	..	..	..	..	..	..	9.97	3.64	42.9	15.2	..
50°	..	..	..	..	..	..	0.28	..	44.6	16.4	..	..	..
60°	0.35	..	0.46	..	0.79	..	1.18	..	..	..	..	..	0.67
70°	1.51	0.58	2.02	0.71	3.23	1.19	5.13	1.94	..	..	..	..	2.47
80°	5.61	2.31	7.79	2.98	13.0	5.03	18.3	7.30	..	..	..	..	9.92
90°	20.5	..	26.5	..	43.6	..	..	..	..	..	..	..	34.3
$k_{1.0}/k_{0.5}$													
30°	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	2.82	..
40°	..	..	..	..	..	..	..	..	..	2.74	..	2.82	..
50°	..	..	..	..	..	..	..	..	..	2.72	..	..	..
70°	..	2.60	..	2.83	..	2.73	..	2.65	..	..	..	..	..
80°	..	2.43	..	2.61	..	2.59	..	2.53	..	..	..	..	..

Valeurs calculées d'après l'extrapolation des données de  
LEININGER et KILPATRICK (voir fig. 5).

t.....	30°	40°	50°	70°	80°
$k_{1.0}/k_{0.5}$	2.49	2.46	2.43	2.38	2.36
Saccharose					

Tableau XXII.

Énergie d'activation à diverses températures.

	Méthylglucoside	Propylglucoside	Isopropylglucoside	Diéthylcarbinol- glucoside	Triméthylcarbinol- glucoside	Diméthyléthylcarbinol- glucoside	Pseudoamylglucoside
1. Hydrolyse avec 1.0 m HCl.							
20°/ 0° .....	..	..	..	..	..	29950	..
30°/20° .....	..	..	..	..	31150	29770	..
40°/30° .....	..	..	..	..	31160	29780	..
40°/ 0° .....	..	..	..	..	..	29870	..
50°/40° .....	..	..	..	..	30150	..	..
50°/20° .....	..	..	..	..	30810	..	..
60°/50° .....	..	..	..	30470	..	..	..
70°/60° .....	33190	33570	31950	33310	..	..	29690
80°/70° .....	31620	32440	33500	30790	..	..	33430
80°/50° .....	..	..	..	31520	..	..	..
90°/80° .....	33010	31740	30720	..	..	..	31610
90°/60° .....	32610	32430	32090	..	..	..	31540
2. Hydrolyse avec 0.5 m HCl.							
40°/30° .....	..	..	..	..	..	29830	..
50°/40° .....	..	..	..	..	30250	..	..
80°/70° .....	33260	34390	34740	31910	..	..	..

Dans le tableau XXIII nous avons indiqué quelques données concernant l'hydrolyse fermentative des glucosides dont l'hydrolyse acide a été examinée dans ce mémoire. Ces données ont été tirées d'un mémoire de VEIBEL et LILLELUND (8) ou indiquées plus haut dans le présent mémoire.

Les valeurs moyennes de l'énergie d'activation de l'hydrolyse acide des glucosides des alcools primaires, secondaires

Tableau XXIII.

Énergie d'activation. Hydrolyse fermentative.

Glucoside	$10^2 \cdot k_{obs}$		$10^2 \cdot k_3$		Q
	30°	20°	30°	20°	
Méthyl.....	2.7	1.35	1.89	0.94	12200
Propyl.....	22.6	11.3	5.08	2.34	13500
Isopropyl.....	16.9	7.9	7.51	3.62	13100
Diéthylcarbinol.....	220	121	13.3	7.3	10600
Triméthylcarbinol....	0.03	—	0.05	—	—
Diméthyléthylcarbinol	0.56	—	0.11	—	—
Triéthylcarbinol*)....	2.0	0.73	0.16	0.05	19960
Pseudoamyl.....	4.54	1.70	0.39	0.14	18060

\*) VEIBEL et LILLELUND (17).

et tertiaires sont respectivement 32520 cal, 31810 cal et 30340 cal. Q est donc à peu près le même pour les deux premières catégories de glucosides et un peu inférieur pour la troisième catégorie. Le pseudoamylglucoside se range et par la valeur de la constante de sa vitesse d'hydrolyse et par celle de son énergie d'activation parmi les glucosides des alcools primaires, si l'on ne considère que les valeurs trouvées par l'hydrolyse acide.

En regardant les valeurs correspondantes pour l'hydrolyse fermentative (tableau XXIII), on trouvera, premièrement, que l'effet du catalyseur biochimique est, comme d'habitude, de diminuer l'énergie d'activation nécessaire pour réaliser l'hydrolyse, et, deuxièmement, qu'ici aussi les valeurs de Q pour les glucosides des alcools primaires et secondaires sont à peu près égales. Quant à l'énergie d'activation de l'hydrolyse fermentative des glucosides des alcools tertiaires, il faut dire que les deux glucosides en question sont hydrolysés si lentement à 30° qu'une détermination des constantes de la vitesse d'hydrolyse à 20° serait très

inexacte, de sorte que le calcul de  $Q$ , basé sur de telles expériences, n'aurait pas grande valeur. Nous avons déterminé antérieurement (VEIBEL et LILLELUND (17)) la constante de la vitesse d'hydrolyse du triéthylcarbinol- $\beta$ -d-glucoside à  $30^\circ$  et à  $20^\circ$ . Ce glucoside est hydrolysé considérablement plus vite que les deux glucosides d'alcools tertiaires mentionnés dans le présent mémoire, et les déterminations des constantes sont donc du même ordre d'exactitude que celle qui est valable pour les autres glucosides. Ces expériences ont donné pour  $Q$  la valeur 19960 cal, valeur considérablement supérieure aux valeurs trouvées pour les glucosides des alcools primaires et secondaires. On trouve donc ici une différence essentielle entre l'hydrolyse acide et l'hydrolyse fermentative.

Le glucoside de l'alcool pseudoamylique se range par la valeur de  $k_{\text{obs}}$  parmi les glucosides des alcools primaires, mais par la valeur de  $k_3$  et surtout par la valeur de  $Q$ , il se rapproche des glucosides des alcools tertiaires.

Cela attire de nouveau l'attention sur les relations stériques, qui peuvent être telles que l'ion hydrogène n'est pas empêché d'exercer son action hydrolysante, tandis que le molécule du catalyseur biochimique, qui est beaucoup plus grand que l'ion hydrogène, en est empêché par les alcyls tertiaires. On peut espérer d'être renseigné sur ces relations en calculant la constante  $B$  de l'équation d'ARRHENIUS:  $\ln k = \frac{-Q}{RT} + B$ ,  $B$  étant une expression du nombre des collisions effectives, de sorte que plus grande est la valeur de  $B$ , plus grand est le nombre des collisions qui ont fait naître une réaction. Il faut admettre que la détermination de  $B$  d'après les expériences décrites plus haut ne devient que très peu exacte, car l'intervalle de température accessible à l'expérience n'est forcément qu'une fraction minimale de l'intervalle nécessaire pour une détermination exacte de  $B$ , embrasant des valeurs de la température allant de  $300^\circ$  environ jusque vers  $\infty$  (degrés absolus). L'inclinaison de la ligne déterminant  $B$  n'est donc connue qu'avec très peu d'exactitude.

Un calcul de B pour l'hydrolyse enzymatique n'est pas possible, car on ne connaît pas la concentration moléculaire du ferment. Il faut s'imaginer, néanmoins, que l'ordre des constantes B sera indépendant du facteur tenant compte du poids moléculaire du ferment, de sorte que les constantes B calculées d'après les valeurs de  $k_3$  indiquées plus haut (tableau XXIII) en ce qui concerne la dépendance de la catégorie de l'alcool présent dans le glucoside, peuvent être comparées avec les constantes B pour l'hydrolyse acide.

Dans le tableau XXIV nous indiquons les valeurs de k, de Q et de B, et pour l'hydrolyse acide, et pour l'hydrolyse enzymatique, les valeurs de  $B_{\text{enzymatique}}$  n'ayant, toutefois, aucune signification réelle, mais seulement comparative en ce qui concerne la variation de B avec la catégorie d'alcool.

Pour les calculs nous nous sommes servis, en ce qui concerne l'hydrolyse acide, de la valeur de Q déterminée à l'aide des expériences où la différence de température est la plus grande, soit 30°. La constance de B pour chaque glucoside prouve de nouveau que les expériences décrites dans le présent mémoire ne suffisent pas pour constater une variation éventuelle de Q avec la température.

En ce qui concerne l'hydrolyse enzymatique, la différence de température n'est que de 10°, et pour les glucosides des deux alcools tertiaires dont l'hydrolyse acide a été étudiée, nous n'avons examiné l'hydrolyse enzymatique qu'à une seule température. Pour le calcul de B dans ces cas nous nous sommes servis de la valeur  $Q = 19960$  cal trouvée pour le triéthylcarbinol- $\beta$ -d-glucoside; la détermination de cette valeur a été mentionnée plus haut (p. 28).

On verra au tableau XXIV que les valeurs trouvées pour la constante B ne donnent aucun appui à la théorie d'un empêchement stérique, causant la différence entre les glucosides des alcools tertiaires et ceux des autres alcools. En ce qui concerne l'hydrolyse acide, les valeurs des constantes B sont à peu près les mêmes pour les deux premières catégories de glucosides et supérieures pour ceux des alcools tertiaires, qui sont hydrolysés beaucoup plus vite que les autres. En ce qui concerne l'hydrolyse fermentative, les valeurs de B pour les glucosides des alcools tertiaires sont de beaucoup supérieures aux valeurs de B pour les autres glucosides, qui sont néanmoins hydrolysés beaucoup

Tableau XXIV.

Valeurs de k, Q et B.

Glucoside	1.0 m HCl				0.5 m HCl			Enzymatique			
	t	k·10 <sup>5</sup>	Q	B	k·10 <sup>5</sup>	Q	B	t	kg·10 <sup>3</sup>	Q	B
Méthyl.....	60°	0.35	32610	15.96	—	—	—	—	—	—	—
	70°	1.51	32610	15.96	0.58	33260	15.97	30°	0.725	12200	5.7
	80°	5.61	32610	15.96	2.31	33260	15.97	—	—	—	—
	90°	20.5	32610	15.96	—	—	—	—	—	—	—
				16.0			16.0				5.7
Propyl.....	60°	0.46	32430	15.96	—	—	—	—	—	—	—
	70°	2.02	32430	15.98	0.71	34390	16.79	30°	1.95	13500	7.0
	80°	7.79	32430	15.98	2.98	34390	16.78	—	—	—	—
	90°	26.5	32430	15.96	—	—	—	—	—	—	—
				16.0			16.8				7.0
Isopropyl..	60°	0.79	32090	15.97	—	—	—	—	—	—	—
	70°	3.23	32090	15.97	1.19	34740	17.23	30°	2.88	13100	6.9
	80°	13.0	32090	15.98	5.03	34740	17.22	—	—	—	—
	90°	43.6	32090	15.97	—	—	—	—	—	—	—
				16.2			17.2				6.9
Diéthyl- carbinol ...	50°	0.28	31520	15.80	—	—	—	—	—	—	—
	60°	1.18	31520	15.77	—	—	—	30°	5.10	10600	5.3
	70°	5.13	31520	15.79	1.94	31910	15.63	—	—	—	—
	80°	18.3	31520	15.77	7.30	31910	15.63	—	—	—	—
				15.8			15.6				5.3
Triméthyl- carbinol ...	20°	0.33	30810	17.51	—	—	—	—	—	—	—
	30°	1.91	30810	17.52	—	—	—	30°	0.02	19960	9.7
	40°	9.97	30810	17.52	3.64	30250	16.70	—	—	—	—
	50°	47.6	30810	17.51	16.4	30250	16.70	—	—	—	—
				17.5			16.7				9.7
Diméthyl- éthyl- carbinol ...	0°	0.04	29870	17.50	—	—	—	—	—	—	—
	20°	1.63	29870	17.50	—	—	—	—	—	—	—
	30°	8.82	29870	17.50	3.12	29830	17.02	30°	0.042	19960	10.0
	40°	42.9	29870	17.50	15.2	29830	17.03	—	—	—	—
				17.5			17.0				10.0
Triéthyl- carbinol ...	{	—	—	—	—	—	—	30°	0.061	19960	10.2
Pseudoamyl	60°	0.67	31540	15.54	—	—	—	—	—	—	—
	70°	2.47	31540	15.50	—	—	—	30°	0.15	18060	9.2
	80°	9.92	31540	15.54	—	—	—	—	—	—	—
	90°	34.3	31540	15.54	—	—	—	—	—	—	—
				15.5							9.2

plus vite que les glucosides avec les grandes valeurs de B. Le pseudoamylglucoside se range aussi par sa valeur de B parmi les glucosides des alcools tertiaires en ce qui concerne l'hydrolyse fermentative, tandis que, en ce qui concerne l'hydrolyse acide, il est plus rapproché des glucosides des alcools primaires et secondaires.

Les valeurs de la constante B n'autorisent donc pas l'extension de la théorie du rapport entre le volume moléculaire du substituant et la vitesse d'hydrolyse enzymatique, proposée par HELFERICH, GRÜNLER et GNÜCHTEL (18) pour des substituants introduits dans le molécule de glucose d'un glucoside, aux substituants introduits dans l'aglucone, car cette théorie demande que plus grand est le volume moléculaire, plus petite est la vitesse d'hydrolyse.

En ce qui concerne le mécanisme de l'hydrolyse des glucosides il semble utile de se rappeler que les glucosides sont des acétals mixtes. L'idée de comparer l'hydrolyse des acétals et l'hydrolyse des glucosides semble donc bien naturelle.

SKRABAL et ses collaborateurs (19) ont examiné l'hydrolyse acide de quelques formals. Ils ont trouvé les constantes de la vitesse d'hydrolyse suivantes:

Substance	$10^2 \cdot k$ (25°)
Diméthylformal .....	9.18
Diéthylformal .....	78
Dipropylformal.....	86
Diisopropylformal.....	433
Di-méthyléthylecarbinolformal ..	595

BRØNSTED et GROVE (20) ont trouvé pour le diméthylacétal  $k_{H_3O^+} = 3.92$  (20°), et RIESCH et KILPATRICK (21) indiquent pour le diéthylacétal  $k_{H_3O^+} = 2.43$  (25°). RIESCH et KILPATRICK ont de plus déterminé l'énergie d'activation. Ils ont trouvé  $k_{35}/k_{25} = 3.395$ , d'où ils calculent

$Q = 22323$  cal. Plus tard LEININGER et KILPATRICK (22) ont trouvé  $k_{35}/k_{25} = 3.996$  ou  $Q = 25290$  cal.

On voit donc que les constantes de la vitesse d'hydrolyse pour les acétals des alcools primaires sont relativement petites, celles des alcools secondaires beaucoup plus grandes. Les acétals des alcools tertiaires ne semblent pas avoir été examinés.

Nous avons trouvé que les constantes de la vitesse d'hydrolyse sont du même ordre de grandeur pour les glucosides des alcools primaires et secondaires, celles des alcools secondaires étant peut-être un peu plus grandes que celles des alcools primaires. Si l'on se souvient que dans les glucosides l'acétalisation de l'un des deux groupements —OH a toujours eu lieu avec un alcool secondaire (l'atome de carbone no. 5 dans le glucoside), de sorte que la différence entre les catégories d'acétal, en ce qui concerne les glucosides, est restreinte à l'autre groupement —OH, qui peut être remplacé par un groupement —OR, où R est l'alcyde d'un alcool primaire, secondaire ou tertiaire, il semble naturel que la différence entre les vitesses d'hydrolyse des deux premières catégories de glucosides ne soit pas aussi grande que celle entre les acétals simples des alcools primaires et secondaires, tandis qu'une différence considérable se manifeste, quand un alcyde tertiaire est introduit dans le molécule du glucose. Il faut tout de même reconnaître que les valeurs indiquées par SKRABAL sont déterminées à  $25^\circ$ , tandis que les valeurs trouvées par nous, en ce qui concerne les glucosides des alcools primaires et secondaires, sont déterminées à une température plus élevée ( $60^\circ$ — $90^\circ$ ). Il y a donc une différence considérable entre les valeurs des constantes d'hydrolyse des acétals simples et celles des glucosides.

Tout en admettant que l'hydrolyse des glucosides puisse être comparée à l'hydrolyse des acétals, on n'est que très peu renseigné sur le mécanisme de l'hydrolyse. HEISIG (23) a montré qu'un glucoside, soumis à l'alcoolyse catalysée par des ions hydrogène, échange son aglucone contre l'alcyde de l'alcool servant comme dissolvant, en subissant en même temps une transposition Walden, de sorte que le  $\alpha$ -phénylglucoside, alcoolysé dans l'alcool méthylique contenant de l'acide chlorhydrique, donne naissance au  $\beta$ -méthylglucoside. Si le même mécanisme est suivi pendant l'hydrolyse, le produit primaire de l'hydrolyse d'un  $\beta$ -glucoside sera du  $\alpha$ -glucose, qui à son tour subira la mutarotation, et le changement de rotation pendant la mutarotation sera à gauche.

Quelques expériences préliminaires nous ont donné une vérification des résultats de HEISIG. Toutefois, l'alcoolyse n'est pas complète; même dans des solutions diluées du glucoside un équilibre s'établira, prouvant qu'il y a dans une solution alcoolique d'un glucoside, contenant de l'acide chlorhydrique, un échange mutuel d'alcyde entre le glucoside et l'alcool, de sorte que dans l'équilibre on trouvera, à côté de l'alcool servant comme dissolvant, l'alcool correspondant à l'aglucone du glucoside dissous et les deux glucosides. L'échange des alcyles est, dans les deux directions, accompagné d'une transposition Walden.

Dans une solution aqueuse, où l'alcyde de l'alcool a été remplacé par un atome d'hydrogène, un tel mécanisme peut amener l'hydrolyse complète, ou presque, du glucoside, même si l'équilibre entre glucoside et glucose primairement libéré ne correspond qu'à une hydrolyse partielle du glucoside, car le glucose subira à son tour la mutarotation, forçant ainsi l'hydrolyse progressive du glucoside. Cela reste valable, indépendamment d'une transposition Walden

accompagnant ou non l'hydrolyse, et l'hydrolyse acide peut donc être regardée comme un échange mutuel entre le glucoside et l'eau du groupement —OR et du groupement —OH, suivi de la mutarotation du glucose  $\alpha$  ou  $\beta$  formé par l'échange.

Des expériences préliminaires semblent indiquer que l'hydrolyse, par opposition à l'alcoolyse, ne soit pas accompagnée d'une transposition Walden, car un échantillon d'une solution acide d'un glucoside- $\beta$ , partiellement hydrolysée, semble mutaroter vers la droite, indiquant que c'est du glucose- $\beta$  qui se trouve dans la solution.

Un mécanisme semblable a été proposé pour l'hydrolyse fermentative des glucosides par LETTRÉ (24), qui est d'avis que le groupement prostéthique du ferment consiste en un molécule d'un hydrate de carbone, renfermant un groupement aldéhydique hydratisé, —CH(OH)<sub>2</sub>, rendant ainsi possible l'échange mutuel des groupements —OR et —OH entre glucoside et ferment. Le ferment alcylé peut à son tour réagir avec de l'eau sous régénération du ferment. La théorie de LETTRÉ ne peut pas être correcte dans la formulation proposée par lui (comp. VEIBEL et LILLELUND (17)), mais les expériences de HELFERICH et collaborateurs (24, 25) portent à croire que le ferment contient vraiment un ou plusieurs hydrates de carbone; des expériences ultérieures montreront le bien-fondé du principe de la théorie de LETTRÉ. Il faut se souvenir aussi des expériences de NEUBERG (27), qui ont montré que le diéthyl-acétal peut être hydrolysé sous l'influence de l'émulsine.

### Résumé.

On a examiné l'hydrolyse acide de quelques glucosides- $\beta$  des alcools primaires, secondaires et tertiaires. Les constantes de la vitesse d'hydrolyse ainsi que les énergies d'activation  $Q$  et les constantes  $B$  dans l'équation d'ARRHENIUS:  $\ln k = \frac{-Q}{RT} + B$  sont indiquées dans les tableaux VII—IX, XXI—XXII et XXIV. L'hydrolyse fermentative des glucosides, dont l'hydrolyse acide a été examinée dans ce mémoire, a été examinée antérieurement par VEIBEL et collaborateurs sauf pour trois glucosides, dont l'hydrolyse fermentative est décrite dans ce mémoire. Les constantes trouvées pour tous les glucosides sont indiquées dans les tableaux XX, XXIII et XXIV. Il faut se rendre compte que les constantes  $B$  pour l'hydrolyse fermentative n'ont pas de signification physique concrète, la concentration moléculaire du ferment n'étant pas connue.

On a trouvé que les constantes de la vitesse d'hydrolyse, l'énergie d'activation et les constantes  $B$ , en ce qui concerne l'hydrolyse acide, sont assez rapprochées les unes des autres pour les glucosides des alcools primaires et secondaires, tandis que pour les glucosides des alcools tertiaires les constantes de la vitesse d'hydrolyse sont supérieures aux autres par 2 ou 3 ordres de grandeur, en même temps que  $Q$  est un peu inférieur et  $B$  un peu supérieur pour ces derniers glucosides que pour les autres.

En ce qui concerne l'hydrolyse fermentative, les constantes de la vitesse d'hydrolyse, les énergies d'activation et les constantes  $B$  sont également assez rapprochées les unes des autres pour les glucosides des alcools primaires et secondaires (mais différentes des constantes de l'hydrolyse acide). Pour les glucosides des alcools tertiaires, par contre, les

constantes de la vitesse d'hydrolyse sont inférieures aux constantes des autres glucosides de un ou de deux ordres de grandeur. L'énergie d'activation et les constantes B sont sensiblement plus grandes pour les derniers glucosides que pour les autres.

Le pseudoamyglucoside se range en ce qui concerne l'hydrolyse acide parmi les glucosides des alcools primaires, et en ce qui concerne l'hydrolyse fermentative plutôt parmi les glucosides des alcools tertiaires.

On a discuté un mécanisme possible de l'hydrolyse des glucosides, profitant des expériences publiées par HEISIG au sujet de l'alcoolyse des glucosides.

(Laboratoire de Chimie de l'Université, Copenhague).

---

**Bibliographie.**

1. R. KUHN et H. SOBOTKA, Ztschr. physiol. Chem. 109, 65 (1924).
2. K. JOSEPHSON, Ztschr. physiol. Chem. 147, 1 (1925).
3. E. A. MOELWYN-HUGHES, Trans. Farad. Soc. 25, 81 (1929).
4. B. HELFERICH, H. E. SCHEIBER, R. STREEK et F. VORSATZ, Liebigs Ann. 518, 211 (1935).
5. H. E. SCHEIBER, Dissertation, Leipzig (1935).
6. S. VEIBEL et F. ERIKSEN, D. Kgl. Danske Vidensk. Selskab, Math.-fys. Medd. XIII, 17 (1936).
7. S. VEIBEL et F. ERIKSEN, D. Kgl. Danske Vidensk. Selskab, Math.-fys. Medd. XIV, 15 (1937).
8. S. VEIBEL et H. LILLELUND, D. Kgl. Danske Vidensk. Selskab, Math.-fys. Medd. XVII, 6 (1940).
9. S. VEIBEL et F. ERIKSEN, Bull. Soc. chim. [5] 3, 277 (1936).
10. S. VEIBEL et H. LILLELUND, Bull. Soc. chim. [5] 5, 494 (1938).
11. G. ZEMPLEN et E. PASCU, Ber. dtsh. chem. Ges. 62, 1613 (1929).
12. S. VEIBEL, F. LUNDQVIST, F. ANDERSEN et E. FREDERIKSEN, Bull. Soc. chim. [5] 6, 990 (1939).
13. S. VEIBEL et F. ERIKSEN, Biochem. Journ. 30, 163 (1937).
- 13a. J. A. CHRISTIANSEN, Communication privée.
14. S. VEIBEL, Enzymol. 2, 367 (1938).
15. M. DUBOUX, Bull. Soc. Vaud. Sc. nat. 59, 49 (1937).
16. P. M. LEININGER et M. KILPATRICK, Journ. Am. chem. Soc. 60, 2891 (1938).
17. S. VEIBEL et H. LILLELUND, Ztschr. physiol. Chem. 253, 55 (1938).
18. B. HELFERICH, S. GRÜNLER et A. GNÜCHTEL, Ztschr. physiol. Chem. 248, 85 (1937).
19. A. SKRABAL et K. H. MINTL, Ztschr. phys. Chem. 111, 98, (1924).
20. J. N. BRØNSTED et C. GROVE, Journ. Am. chem. Soc. 52, 1394 (1930).
21. L. C. RIESCH et M. KILPATRICK, Journ. phys. chem. 39, 561 (1935).

- 38 S. VEIBEL et E. FREDERIKSEN: L'hydrolyse acide et fermentative etc.
22. P. M. LEININGER et M. KILPATRICK, Journ. Am. chem. Soc. 61, 2510 (1939).
23. H. HEISIG, Dissertation, Breslau 1937.
24. H. LETTRÉ, Ztschr. angew. Chem. 50, 581, (1937).
25. B. HELFERICH, W. RICHTER et S. GRÜNLER, Ber. Sächs. Akad. d. Wiss. math.-fys. Kl. 89, 385 (1938).
26. B. HELFERICH et W. W. PIGMANN, Ztschr. physiol. Chem. 259, 253 (1939).
27. C. NEUBERG et R. ZIFFER, Enzymol. 5, 389 (1939).
-