

RECHERCHES BIOCHIMIQUES
SUR LES
DIPSACACÉES DU LIBAN
ET DE LA SYRIE



50376
1949
3 bis

50376
1949
3
BIS

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE LILLE

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

PIERRE LYS

Première thèse :

RECHERCHES BIOCHIMIQUES SUR LES DIPSACACÉES
DU LIBAN ET DE LA SYRIE

Deuxième thèse :

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

soutenues le 17 Février 1949, devant la commission d'examen

MM. HOCQUETTE..... *Président.*

HEIM DE BALSAC.....
WATERLOT.....
LESPAGNOL..... } *Examineurs.*

EXTRAIT DES NOTES ET MÉMOIRES DE SCIENCES NATURELLES
SUR LE MOYEN-ORIENT

TOME V, 1954



UNIVERSITÉ DE LILLE — FACULTÉ DES SCIENCES

Doyen : M. PRUVOST, Professeur de Géologie et Minéralogie.

Assesseur : M. ROUELLE, Professeur de Physique et Électricité industrielles.

Professeurs honoraires

CHATELET	PASCAL	CHAZY	SWYNGEDAUF	CAU	GAMBIER
BRUHAT	PAUTHENIER	PARISELLE	JOUNIAUX	MAZET	WIEMANN
FOSSE	BEGHIN	FLEURY	CHAUDRON	DOLLE	

Maître de conférences honoraire : M. QUINET.

Professeurs

ARNOULT.....	Radioélectricité générale.
CHAPELON.....	Analyse supérieure et calcul des probabilités.
CORSIN.....	Paléobotanique et Paléontologie houillère.
DEHORNE.....	Zoologie générale et appliquée.
DECARRIÈRE.....	Chimie et Physico-Chimie industrielles.
DUPARQUE.....	Pétrographie des roches combustibles.
FRANÇOIS.....	Chimie minérale.
GALLISSOT.....	Mathématiques appliquées et Astronomie.
HOCQUETTE.....	Biologie végétale et agricole.
KAMPE DE FÉRIET.....	Mécanique des fluides.
LEFEBVRE.....	Chimie appliquée et Chimie de la houille.
LELONG.....	Mécanique rationnelle et Mécanique expérimentale.
M ^{me} LELONG.....	Calcul différentiel et intégral.
ROIG.....	Physique générale.
WIEMAN.....	Chimie générale et Chimie organique.

Professeurs sans chaire

CORDONNIER.....	Physique.
DELOFFRE.....	Chimie agricole et Botanique P. C. B.
HEIM DE BALSAC.....	Zoologie.
MICHEL.....	Chimie appliquée.
SAVARD.....	Chimie.

Maîtres de conférences

BONTE.....	Hydrogéologie.
DECUYPER.....	Mathématiques appliquées.
DEHORS.....	Physique et Électricité industrielles.
M ^{lle} DELWAULLE.....	Chimie générale.
FOURNIER.....	Physique.
MARTINOT-LAGARDE....	Mécanique des fluides.
WATERLOT.....	Géologie et Géographie physique.

Chef du secrétariat : M^{lle} BLANCARD DE LERY.

RECHERCHES BIOCHIMIQUES
SUR LES
DIPSACACÉES DU LIBAN
ET DE LA SYRIE



RECHERCHES BIOCHIMIQUES

SUR LES

DIPSACACÉES DU LIBAN ET DE LA SYRIE

PAR

Pierre LYS

INTRODUCTION

Ce travail a pour but d'approfondir quelque peu la biochimie encore obscure de la famille des Dipsacées¹, spécialement celle des glucides, et, à l'aide des connaissances acquises, de préciser autant que possible sa position systématique parmi les Gamopétales inférovariées.

Rapprochée tour à tour des Composées et des Valérianacées, avec lesquelles elle offre certaines affinités, cette petite famille de l'alliance des Rubiales se distingue des unes et des autres par la présence simultanée de feuilles opposées, d'une inflorescence généralement capituliforme, de fleurs irrégulières tétra ou pentamères à étamines libres entre elles, et d'un ovaire uniloculaire à un seul ovule anatrope fournissant à maturité un akène à albumen charnu. Le caractère le plus saillant des Dipsacées reste toutefois la présence constante d'un involucelle doublant le calice, généralement persistant autour du fruit et s'épanouissant au sommet en coupe, en dents ou en arêtes.

C'est ce dernier caractère, et lui seul, qui semble avoir incité ADANSON (1) à intégrer dans les Dipsacées les deux genres *Triplostegia* et *Morina* qui s'écartent essentiellement des autres genres de la famille par leur inflorescence non capituliforme et rompent ainsi l'homogénéité du groupe. Le genre *Triplostegia*, dont les espèces ont des inflorescences en cymes bipares groupées en ombelles, en a d'ailleurs été exclu définitivement par HOECK (51) en 1902 et rattaché par lui aux Valérianacées. Quant aux espèces du genre *Morina*, elles diffèrent si notablement des véritables Dipsacées que DE CANDOLLE lui-même en a fait une tribu séparée, celle des MORINAE (19).

1. Le terme de Dipsacacées est plus conforme à la nomenclature, mais, pour plus de simplicité, on utilisera de préférence celui de Dipsacées au cours de cet exposé.

Un double problème reste donc posé aux systématiciens : celui de définir les limites naturelles des différents genres qui composent la famille et en second lieu celui de préciser les affinités réelles des Dipsacées avec les familles voisines. A ce double point de vue, les données fournies par la biochimie peuvent être d'un réel secours. Pour s'en convaincre, il n'est que de se rappeler par exemple les travaux de CARLES sur les *Iris* (20) et ceux, plus récents, de M^{lle} M.-M. CHOLLET sur les Campanulacées et les Lobéliacées (25).

Les travaux d'ordre biochimique qui ont été consacrés jusqu'ici aux Dipsacées sont encore peu nombreux. A ma connaissance tout au moins, la première mention en a été faite par DRAGGENDORF en 1870 (35) dans une monographie parue à Saint-Pétersbourg et citée par WEHMER en 1911 (92). Cet auteur donne l'inuline comme constituant du *Cephalaria procera* L. En 1884, GRIGNON (42) prétend de son côté avoir identifié l'inuline dans le rhizome de *Dipsacus sylvestris* L. En 1896, PLANCHON et COLLIN mentionnent dans leur Traité de Matière médicale que les rhizomes des Dipsacées renferment une substance amère légèrement astringente (71). HARLAY (45) signale d'autre part en 1905 que le *Dipsacus pilosus* L. contient un glucide touché par l'invertine, mais il hésite à affirmer qu'il s'agit de saccharose. Ce même auteur indique le premier l'existence dans la racine du *D. pilosus* L. d'un principe hydrolysable par l'émulsine, mais il faut arriver aux recherches de BOURQUELOT et BRIDEL, en 1920, pour que cette substance soit identifiée comme un glucoside (13). Ces auteurs, utilisant la méthode biochimique, mettent en évidence dans la racine du *Scabiosa succisa* L., à côté du saccharose, un nouveau glucoside dédoublable par l'émulsine, auquel ils donnent le nom de « scabiosine », après l'avoir isolé par épuisement des racines à l'alcool, reprise des extraits par l'acétone et purification par l'éther acétique bouillant. Ils obtiennent ainsi un produit vitreux, incristallisable, dont ils donnent simplement le pouvoir rotatoire, qui s'élève à $-106^{\circ}52$, et l'indice de réduction enzymolytique, égal à 219.

Reprenant en 1925 les travaux de BOURQUELOT et BRIDEL sur le *Scabiosa succisa* L., WATTIEZ (88), s'adressant cette fois aux feuilles, les soumet à un essai biochimique. Les résultats fournis par l'action de l'émulsine lui font soupçonner la présence dans ces feuilles d'un glucoside spécial dont l'indice de réduction interfère avec celui de la scabiosine. S'inspirant de la technique de BOURQUELOT et BRIDEL, WATTIEZ tente l'extraction de ce glucoside par épuisement méthodique à l'aide d'acétone hydratée. Les solutions acétoniques, concentrées, lui fournissent une substance cristallisée en lamelles carrées qu'il identifie au méthylglucoside β (glucoside qui n'avait été obtenu jusque-là que par synthèse), tandis que le résidu acétonique livre après extraction éthéroacétique et purification par l'éther le même glucoside que celui des racines, à savoir le « scabioside », auquel WATTIEZ assigne un pouvoir rotatoire de $-104^{\circ}15$ et un indice de réduction de 194 après émulsine.

En 1926, à la suite de nouvelles recherches (89), WATTIEZ retrouve le méthylglu-

coside β dans les feuilles du *Dipsacus arvensis* L. à côté du scabioside qui existe seul dans les racines de cette espèce. Toujours incristallisable, le scabioside lui fournit cette fois un pouvoir rotatoire de $-105^{\circ}81$ et un indice de réduction de 201 après émulsine. Le scabioside se dissout dans l'eau en solution légèrement trouble, ne réduit pas le Fehling et donne par hydrolyse acide un précipité granuleux jaunâtre à odeur aromatique.

Là se limitent les données physico-chimiques acquises jusqu'à présent sur cet hétéroside qui ne paraît plus avoir été étudié depuis lors.

Cependant, WATTIEZ publie en 1929 (90) le résultat de nouvelles recherches entreprises par lui sur différentes Dipsacées européennes. Il signale à nouveau la présence de scabioside dans les feuilles du *Scabiosa Columbaria* L. et du *Scabiosa caucasica* L., à côté du méthylglucoside β , mais ne le retrouve pas dans les feuilles du *Knautia arvensis* L., tandis que le *Cephalaria alpina* L. lui semble renfermer, en même temps que du saccharose et du méthylglucoside β , un hétéroside amorphe différent du scabioside, et le *Dipsacus pilosus* L. un mélange d'hétérosides non identifiés.

Signalons qu'entre temps CUHEL mentionne l'existence d'une saponine dans le *Succisa pratensis* MOENCH (33) et que TAMMES, en 1908 (80), affirme la présence chez les Dipsacées d'un chromogène, appelé « Dipsacon », qui fournirait sous l'action d'une diastase une matière colorante bleue, le « Dipsacotin », et sous celle des alcalis un pigment jaune rouge. Le « Dipsacon » existerait chez toutes les Dipsacées, sauf dans le genre *Morina*. La nature de ce chromogène n'a pas davantage été précisée.

A la suite de ces différents travaux, la littérature consacrée aux Dipsacées ne fournit plus que des données histochimiques ou de simples dosages de principes immédiats. C'est ainsi que KLEIN, en 1931 (57), appliquant la méthode histochimique à différents organes de *Dipsacus sylvestris* L., met en évidence dans les akènes de cette espèce la présence d'aleurone, de matières grasses et de phytostérol. Le total des lipides dans les akènes s'élèverait, d'après cet auteur, à 24,73 %, celui des protides à 23,75 %. La tige et les feuilles renfermeraient plus de 1 % de tanin.

Plus récemment, POLITIS, en 1947 (72), recherchant l'acide chlorogénique chez les végétaux à l'aide d'une méthode simple de coloration à l'ammoniaque, obtient une réaction positive pour cette substance avec toutes les espèces de Dipsacées qu'il a pu examiner. Cette observation est à rapprocher de celle de CHARAUX (22) qui avait signalé antérieurement la richesse en acide caféique des feuilles du *Dipsacus sylvestris* L. On sait, en effet, que les deux constituants de l'acide chlorogénique sont l'acide caféique et l'acide quinique.

Tel est en résumé l'état actuel de nos connaissances sur la biochimie des Dipsacées, qui reste encore bien peu approfondie, en dépit des intéressantes recherches de BOURQUELOT et BRIDEL, puis de WATTIEZ, ces auteurs n'ayant fait qu'effleurer en passant l'étude du contingent glucidique de certaines espèces.

Les différents représentants de cette famille renferment-ils ou non un polyholoside

spécifique qui les distingue ou les rapproche des familles voisines, tel que l'inuline ou un autre fructosane, comme l'ont avancé DRAGGENDORF en 1870, et GRIGNON en 1884 ? Cette opinion a été, il est vrai, infirmée récemment par M^{lle} M.-M. CHOLLET (25) qui assure n'avoir rencontré que du saccharose dans les racines de Cardère et de Knautia.

A défaut d'holoside autonome, les différentes espèces de Dipsacées renferment-elles toutes un hétéroside spécifique analogue au scabioside que BOURQUELOT et BRIDEL, puis WATTIEZ ont isolé du *Scabiosa succisa* L. et du *Dipsacus sylvestris* L. ? Si oui, quels en sont les caractères et les constantes principales ? Quelle est son évolution biochimique dans les plantes qui le renferment, par comparaison avec celle des autres glucides solubles, et peut-on entrevoir quel rôle il joue dans le cycle végétatif ? Peut-on confirmer ou non la présence du méthylglucoside β dans les feuilles des différentes espèces de Dipsacées ? Enfin, l'étude de leur chimisme glucidique vient-elle appuyer ou infirmer les données fournies par la systématique quant à l'homogénéité de l'ensemble de la famille et à la position spéciale du genre *Morina* en marge de ses représentants authentiques ? Telles sont les questions essentielles auxquelles se propose de répondre ce travail.

Le point de départ de ces recherches n'a toutefois pas été l'éclaircissement immédiat de ces différents problèmes. A leur début, elles n'avaient pour objectif que l'étude particulière de la Céphalaire de Syrie. Cette espèce croissant en abondance avec les céréales dans les plaines de l'intérieur du pays syrien, spécialement dans le Hauran, les blés de ces régions renferment toujours une certaine proportion de ses akènes, dont il est difficile de les séparer par un simple triage mécanique, en raison de leur forme et de leurs dimensions sensiblement égales, au point que la Céphalaire de Syrie est citée par BALLAND (4), dès 1888, comme impureté caractéristique des blés du Levant. Or, la farine qui en est extraite fournit un pain gris verdâtre, à saveur amère, qui passe dans les pays d'origine pour engendrer des troubles intestinaux. C'est en vue d'élucider la cause de cette amertume que j'ai été amené à entreprendre l'étude de la Céphalaire de Syrie. Différents essais biochimiques m'ayant permis d'y déceler la présence d'un hétéroside justiciable de l'émulsine, je me suis attaché à l'isolement et à l'étude de cet hétéroside au double point de vue chimique et biochimique. Il m'a paru également intéressant de suivre la destinée de cet hétéroside durant les différentes phases du cycle végétatif, tout spécialement au cours de la fructification et de la germination, afin d'apporter une modeste contribution à la question toujours controversée du rôle des hétérosides chez les végétaux. Cette étude s'étant révélée fructueuse, et les Dipsacées étant particulièrement bien représentées dans le Proche-Orient, j'ai étendu ces recherches à un certain nombre d'espèces caractéristiques de la flore libano-syrienne, pour avoir une idée d'ensemble de leur biochimie. C'est le résultat de toutes ces investigations, complétées par la recherche des hétérosides dans un certain nombre de Dipsacées asiatiques ou européennes, qui fait l'objet du présent travail.

PREMIÈRE PARTIE

ÉTUDE BIOCHIMIQUE DE QUELQUES DIPSACÉES DU PROCHE-ORIENT

TECHNIQUE DES ESSAIS BIOCHIMIQUES

Le but poursuivi dans ces recherches ayant été principalement l'identification et le dosage des glucides dédoublables par hydrolyse fermentaire, on a utilisé la méthode biochimique de BOURQUELOT (10, 11, 12), complétée par une hydrolyse chlorhydrique en vue de déceler éventuellement les fructoholosides solubles dans l'alcool.

Le principe de la méthode biochimique est bien connu et d'ailleurs exposé dans tous les manuels classiques de chimie végétale et de pharmacie : LEBEAU (60), GORIS (41), WATTIEZ et STERNON (91). On en décrira simplement la technique détaillée telle qu'elle a été utilisée et appliquée dans ces essais.

Stabilisation.

Les plantes à traiter étaient stabilisées dès leur arrivée au laboratoire par immersion de 30' dans cinq fois leur poids d'alcool à 85° bouillant, en présence de carbonate de calcium, au réfrigérant à reflux, puis égouttées, broyées au hachoir et remises en contact 30' à l'ébullition avec l'alcool de stabilisation. Le liquide d'extraction étant filtré après refroidissement, le résidu était exprimé et épuisé de nouveau deux fois avec de l'alcool à 85° bouillant pendant 30', chaque opération étant suivie d'une nouvelle expression. On réunissait alors toutes les liqueurs extractives et on les concentrait, soit au bain-marie à moins de 40°, soit dans le vide, en présence de carbonate de calcium, jusqu'à consistance d'extrait mou et disparition de l'odeur d'alcool. L'extrait était alors repris aussitôt par de l'eau distillée bouillante et la liqueur extractive, amenée après refroidissement à un volume égal au poids de plante fraîche mis en œuvre, était filtrée et additionnée de toluène pour éviter toute altération par les micro-organismes.

Défécation.

On a utilisé la défécation au sous-acétate de plomb et au phosphate de sodium, mais de préférence la défécation au ferrocyanure de zinc préconisée par C. CARREZ (21). Cette dernière méthode, qui laisse absolument intacts tous les glucides (43), fournit des liqueurs toujours limpides et suffisamment décolorées pour se prêter à une bonne lecture polarimétrique. Au besoin, l'addition d'une petite pincée d'hydrosulfite de sodium, sans influence sur le chiffre de la déviation optique, comme l'a montré C. NEYRON (68), complète heureusement la décoloration.

Dosages.

Sur une partie aliquote de la liqueur déféquée, on procède à une première lecture polarimétrique, qui donne la déviation initiale α_1 , et simultanément à un dosage du réducteur préformé R_1 qui fournit la somme des oses simples pour 100 gr. de plante fraîche. On fait alors agir la sucrase¹ dans des conditions bien déterminées (4 heures à 18° et à P. H. voisin de 5,5) pour éviter toute action sur les fructoholosides éventuels. Une deuxième lecture polarimétrique α_2 et un second dosage du réducteur R_2 permettent d'évaluer la proportion des polyoses tributaires de l'invertine. Le calcul de l'indice de réduction enzymolytique² permet de se rendre compte si l'on a bien affaire au saccharose (indice voisin de 600 à +15°, de 630 à +25°). Si l'indice obtenu s'écarte trop de ces chiffres, c'est que d'autres polyoses sont touchés par la sucrase.

Après avoir dénaturé la sucrase par l'action de la chaleur (10' au B. M. bouillant) on fait alors agir l'émulsine, préparée suivant la méthode de H. HÉRISSEY (46). La proportion utilisée est d'environ 0 gr. 50 pour 100 cm³ de liquide mis en œuvre. La liqueur est additionnée de toluène, le flacon bouché soigneusement et placé à l'étuve à 33°. Sur cette liqueur, on effectue des lectures polarimétriques (α_3) à des intervalles de temps déterminés (3^e-7^e-11^e-15^e-30^e jour, etc.) ainsi qu'un nouveau dosage du réducteur total R_3 jusqu'à ce que leur valeur ne change plus. L'augmentation du réducteur R_3-R_2 correspond au sucre hétérosidique libéré sous l'action de l'émulsine, et le retour de la déviation vers la droite $\alpha_3-\alpha_2$ permet de calculer l'indice de réduction enzymolytique de l'hétéroside hydrolysé.

Il ne reste plus qu'à faire agir un acide minéral (HCl à 2 % au B. M. bouillant durant 15 minutes) sur une partie de la liqueur primitive, et à doser le réducteur obtenu R_4 , après neutralisation par la soude diluée, pour obtenir éventuellement la proportion des glucides non touchés par les ferments précédents. Le sens de la déviation optique α_4 observée après hydrolyse acide permet de reconnaître s'il s'agit d'un

1. La sucrase utilisée a été obtenue par autolyse de levure de brasserie suivant le procédé de COLIN (27).

2. On appelle indice de réduction enzymolytique « le nombre de milligrammes de sucre réducteur, exprimé en glucose, formé dans 100 cm³ de liquide soumis à l'action d'un ferment, pour un changement de 1° de la déviation optique observée au tube de deux décimètres » (10).

fructoholoside ou d'un holoside dextrogyre ayant résisté à l'invertine. Dans le cas qui nous occupe, il ne pourrait s'agir que d'un lévulosane (inuline, par exemple) que l'on a affirmé exister chez les Dipsacées.

Toutes les lectures polarimétriques ont été faites au tube de 2 décimètres, à l'aide d'un polarimètre LAURENT, à pénombre, éclairé par la flamme du sodium. Les résultats sont exprimés en degrés d'arc et minutes.

Le dosage du réducteur a été effectué dans tous les cas suivant la méthode classique de G. BERTRAND (6). Le réducteur est exprimé en glucose à l'aide des tables de G. BERTRAND et le chiffre ramené à 100 gr. de plante fraîche.

Résultats.

Les résultats obtenus par ces dosages fournissent donc :

1° **La somme des oses simples** (glucose et fructose). Leur proportion respective n'a pas pu être établie dans le mélange complexe à étudier, même par la méthode d'oxydation bromique ou iodique, du fait de la présence de l'hétéroside qui fausserait les résultats. On s'est donc contenté d'en apprécier la somme et de l'évaluer en glucose.

2° **Le saccharose** ou d'autres polyoses voisins, dont la teneur est exprimée en glucose ou sucre interverti apparu sous l'action de la sucrase.

3° **Le ou les hétérosides** tributaires de l'émulsine, dont la proportion exacte ne peut être calculée qu'après étude de leur hydrolyse sur le produit extrait et purifié. C'est pourquoi la teneur en hétéroside des organes analysés sera simplement exprimée ici par la quantité de glucose apparue dans les extraits sous l'action de l'émulsine.

Cette manière de procéder, qui n'est peut-être pas exempte de critiques, a au moins l'avantage de permettre l'établissement de comparaisons plus rigoureuses entre la fraction strictement glucidique de l'hétéroside et les autres glucides vrais, sans faire intervenir l'aglycone qui a un tout autre comportement physiologique.

4° **L'inuline et les autres fructoholosides**, dont la teneur serait exprimée éventuellement en réducteur (glucose ou sucre interverti) apparu sous l'action d'HCl à 2 % au bain-marie bouillant.

La recherche et le dosage des glucides de membrane (galactosides, mannosides, pentosides, etc.) nécessitant une technique spéciale, cette question sera examinée en particulier dans le chapitre consacré à l'étude de la Scabieuse prolifère (v. plus loin, p. 46).

PREMIERS ESSAIS BIOCHIMIQUES

IDENTIFICATION DES GLUCIDES

CHOIX DES ESPÈCES ÉTUDIÉES

Cette première investigation a porté sur quelques espèces typiques choisies comme les plus représentatives de chaque genre de Dipsacées existant au Liban.

Les plantes analysées ont été récoltées au moment de la floraison ou de la fructification, moment où le stock glucidique semble le plus abondant dans les différents organes et notamment dans les organes souterrains.

Les résultats de ces essais sont rapportés dans le tableau suivant, où α_1 , α_2 , α_3 et α_4 désignent respectivement les déviations optiques initiales, après invertine, après émulsine au 30^e jour et après action de HCl à 2 %; R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , la proportion correspondante de réducteur en grammes de glucose pour 100 grammes de plante fraîche.

RACINES ET AKÈNES MURS.



	α_1	α_2	α_3	α_4	R_1	R_2	R_3	R_4
Racines de <i>Cephalaria syriaca</i> L. Plante en fleurs, mai 1946.	+ 5°20'	— 2°07'	+ 35'	— 2°10'	1,625	5,460	6,077	5,465
R. de <i>Scabiosa prolifera</i> L. Pl. en fl., avril 1947.....	+ 3°02'	— 24'	+ 10'	— 26'	0,215	0,787	0,902	0,790
R. de <i>Dipsacus laciniatus</i> L. Pl. en fl., juin 1947.....	— 3°20'	— 6°18'	— 2°48'	— 6°20'	0,812	2,646	3,486	2,650
R. de <i>Pterocephalus plumosus</i> . Pl. en fl., juin 1947.....	— 1°46'	— 3°56'	+ 45'	— 3°60'	0,750	2,147	3,218	2,152
R. de <i>Morina persica</i> . Pl. en fl., juin 1947.....	+ 2°30'	— 2°20'	— 2°18'	— 2°24'	0,625	3,517	3,512	3,525
A. de <i>Cephalaria syriaca</i> L....	— 6°40'	— 13°07'	0	— 13°07'	0,593	4,49	7,210	4,49
A. de <i>Scabiosa prolifera</i> L....	— 50'	— 1°07'	+ 38'	— 1°08'	0,376	0,55	0,917	0,55
A. de <i>Dipsacus laciniatus</i> L....	— 12°55'	— 14°26'	0	— 14°30'	0,234	1,21	4,305	1,22
A. de <i>Pteroceph. plumosus</i>	— 4°38'	— 6°33'	— 3°12'	— 6°35'	1,062	2,16	3,937	2,16

Identification sommaire des glucides.

L'examen de ce tableau montre immédiatement qu'en dehors des oses simples, les seuls glucides présents dans les racines et les fruits, à l'époque envisagée, sont un ou plusieurs polyoses tributaires de la sucrase et un hétéroside lévogyre dédoublable par l'émulsine, à l'exclusion de tout polyholoside hydrolysable par HCl à 2 %. Il n'y a donc pas lieu de se préoccuper spécialement des fructosanes et la méthode biochimique de BOURQUELOT pourra suffire dans la majorité des cas à évaluer l'ensemble des glucides solubles. Le polyose hydrolysable par l'invertine, qu'il s'agisse des racines ou des graines, semble bien être du saccharose. On s'est attaché à l'identifier par son indice de réduction et dans certains cas à l'extraire des organes les plus riches. Un hétéroside lévogyre présent partout, en plus ou moins grande quantité, sauf dans *Morina persica* L., détermine par sa proportion, concurremment avec le saccharose, le sens de la déviation optique initiale. Il est particulièrement abondant dans les fruits mûrs, notamment ceux de la Céphalaire de Syrie, comme le montre le retour de la déviation vers la droite sous l'action de l'émulsine et la forte quantité de réducteur apparue. Par contre, les akènes de *Scabiosa prolifera* L. n'en renferment qu'une faible proportion.

Choix des espèces étudiées.

Ne pouvant songer à entreprendre l'étude biochimique détaillée de toutes les Dipsacées du Proche-Orient, c'est avant tout sur ces deux dernières espèces que j'ai donc fait porter mes recherches. Appartenant morphologiquement à deux types bien distincts de Dipsacées, elles montrent justement des différences accusées dans la proportion de leurs glucides, ce qui doit permettre d'établir entre elles une comparaison fructueuse. Elles sont aussi les plus répandues dans nos régions.

Grâce à la circonstance déjà signalée de la présence des akènes de Céphalaire dans les blés de Syrie, j'ai pu m'en procurer une quantité assez importante pour pouvoir entreprendre sa culture et suivre ainsi l'évolution de ses glucides durant toute sa végétation annuelle. Quant à la Scabieuse prolifère, par la densité de ses peuplements et la facilité de sa récolte sur tout le littoral proche de Beyrouth, elle constituait, elle aussi, un matériel abondant qui se prêtait à une étude approfondie.

Les autres espèces, plus rares, ou moins accessibles, n'ont pu être étudiées que plus sommairement. Néanmoins, j'ai tenu à examiner, dans chacun des genres de Dipsacées représentés au Liban, une ou plusieurs espèces annuelles, bisannuelles ou vivaces, de manière à pouvoir comparer leur contingent glucidique à celui des deux espèces-type signalées plus haut.

CHAPITRE PREMIER

LES GLUCIDES DE LA CÉPHALAIRE DE SYRIE

Morphologie sommaire.

Cephalaria syriaca L. est une espèce annuelle atteignant 0 m. 50 de hauteur, à racines grêles et pivotantes, à feuilles ovales allongées, entières, à tige rameuse dans sa partie supérieure, portant de 8 à 10 capitules ovoïdes d'environ 1 cm. de diamètre, munis d'un involucre à bractées imbriquées et fournissant des fleurs bleu violacé à périanthe tétramère. Le pistil uniovulé forme à maturité avec le calice et l'involucre persistants un akène ovoïde allongé de la grosseur d'un grain de blé, de couleur brune, à albumen et cotylédons charnus, huileux, de saveur amère prononcée.

Cette espèce, répandue dans toute l'Asie Mineure et l'Afrique septentrionale, sporadique en Europe méridionale, croît régulièrement avec le blé de Syrie, dont elle constitue une commensale presque spécifique en certaines régions (Hauran, Djebel Druze, par exemple). Elle apparaît à la saison des pluies pour fleurir et fructifier en mai-juin. Cette courte période de végétation et la facilité de sa croissance en terrain argilo-calcaire ont permis de la cultiver aisément pour ces essais.

I. — RÉPARTITION DES GLUCIDES DANS LES DIFFÉRENTS ORGANES

Afin d'obtenir des résultats complets, les différents organes ont été analysés en mai-juin, au moment où la plante présente en même temps tous les stades de la floraison et de la fructification. La répartition des glucides a donc pu être étudiée à la fois dans les racines, les tiges et les feuilles, les capitules non épanouis, les capitules fleuris, les akènes en voie de fructification et les akènes mûrs.

Les récoltes ont été faites sur un lot moyen de plantes cultivées dans un terrain d'essai de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Beyrouth. Les opérations de stabilisation et de préparation de la liqueur extractive ont été conduites comme il a été dit. On a recherché en outre, systématiquement, la présence d'amidon, de tanin et d'acide chlorogénique dans tous les organes. Enfin, on déterminait sur un échantillon moyen le pourcentage en matière sèche par dessiccation à l'étuve à 37°. Les résultats obtenus ont été rapportés aux mêmes normes que précédemment, c'est-à-dire à un poids égal ou à 100 gr. de plante fraîche.

Répartition des glucides dans le *Cephalaria syriaca* L. (SCHRAD.).

	RACINES	TIGES	FEUILLES	CAPITULES NAISSANTS	CAPITULES FLEURIS	FRUITS VERTS	AKÈNES MÛRS
Matière sèche %	36,08	41,04	24,69	27,40	39,44	29,98	89,16
Déviati on initiale.	+ 2°15'	+ 1°30'	— 2°30'	— 1°45'	— 2°05'	— 3°10'	— 6°40'
Déviati on invertine.	— 36'	— 46'	— 4°10'	— 2°48'	— 4°09'	— 4°12'	— 13°07'
Déviati on émulsine.	+ 1°45'	+ 14'	— 10'	— 10'	— 1°18'	+ 15'	0
Déviati on HCl 2 %.	— 38'	— 44'	— 4°10'	— 2°50'	— 4°10'	— 4°15'	— 13°06'
Réducteur initial.	0,825	0,425	1,050	0,205	0,975	0,375	0,593
Réducteur invertine.	2,625	1,785	2,150	1,076	2,625	1,212	4,490
Réducteur émulsine.	3,150	2,026	2,995	1,758	3,412	2,047	7,210
Réducteur après HCl 2%.	2,630	1,525	2,160	1,080	2,630	1,215	4,500
Par invertine recul.	2°51'	2°16'	1°40'	1°03'	2°04'	1°02'	6°27'
Sucre formé	1,800	1,360	1,100	0,871	1,650	0,837	3,897
Indice	630	600	660	828	798	810	603
Par émulsine retour.	2°21'	1°	4°	2°38'	2°51'	4°27'	13°07'
Par émulsine sucre formé	0,525	0,240	0,845	0,682	0,787	0,835	2,720
Indice	222	240	211	260	276	187	207
Amidon.	0	un peu dans la moelle	0	0	0	0	0
Tanin	traces	traces	traces	0	0	0	0
Acide chlorogénique	+ dans l'écorce	+ dans l'écorce	+	traces	traces	traces	+ dans le péri- carpe



Interprétation des résultats.

Feuilles :

A l'époque de la floraison, les feuilles renferment donc une proportion importante d'oses simples, accompagnés d'une égale quantité de saccharose (l'indice est en effet voisin de celui du saccharose). L'émulsine fait apparaître un retour de 4° vers la droite de la déviation optique, en même temps qu'une certaine quantité de réducteur secondaire, ce qui manifeste l'élaboration par les feuilles d'un hétéroside lévogyre, d'indice 211. L'hydrolyse chlorhydrique ne modifie pas le chiffre du réducteur obtenu après invertine. Il n'y a donc pas de fructosane. Et les feuilles décolorées par l'alcool ne montrent pas d'amidon.

Tiges :

Le mélange de glucides trouvé dans les tiges présente une composition analogue à celle des feuilles analysées simultanément. Toutefois, le saccharose y dépasse nettement le réducteur initial et prédomine d'autant plus qu'on s'approche de la période

de floraison, ce que traduit bien l'élévation vers la droite du pouvoir rotatoire initial (voir p. 15). Chose curieuse, la moelle de la tige présente à cette période quelques grains d'amidon de 5 à 10 μ , fait qui ne s'observe pas dans le reste du cycle végétatif. L'hétéroside est toujours présent, mais en quantité nettement inférieure à celle des feuilles.

Racines :

La quantité totale de glucides est sensiblement plus élevée dans les racines que dans les tiges à la même époque, mais cette augmentation n'est pas due aux oses simples. Ils ne constituent, en effet, que 26 % environ du total, contre 57 % au polyose tributaire de l'invertine. Le pouvoir rotatoire initial étant fortement positif, et la sucrase déterminant un recul important de la déviation vers la gauche, avec un indice voisin de 600, il y a lieu de penser que ce polyose est bien du saccharose. Par traitement à la baryte, précipitation du sucrate par l'alcool, et régénération du sucre par SO^4H^2 dilué, j'ai pu en effet obtenir du saccharose cristallisé présentant toutes les constantes du saccharose pur et affirmer ainsi sa présence dans les racines de Céphalaire. Aucun autre holoside de réserve ne semble s'y trouver. L'hydrolyse chlorhydrique ne fait varier, ni la déviation, ni le réducteur, et une coupe de racine traitée par la solution iodo-iodurée reste franchement jaune. On peut donc conclure à l'absence de fructosanes et d'amidon dans les organes souterrains de la Céphalaire de Syrie. La réserve glucidique y est limitée au saccharose, accompagné d'une certaine proportion de l'hétéroside trouvé dans les feuilles et les tiges de la même espèce.

Capitules :

Les capitules naissants contiennent un mélange de glucides comparable à celui des tiges, sauf que le réducteur initial y est moins abondant que le saccharose. L'hétéroside se trouve dans le réceptacle florifère à une concentration importante (39 % du total des glucides).

Il se retrouve également dans les capitules fleuris, à un taux voisin de 25 %. Les oses sont toujours en proportion inférieure à celle du saccharose.

Fruits :

Les fruits verts sont relativement pauvres en oses et en saccharose, ce qui s'explique par leur forte teneur en eau qui abaisse la concentration en glucides totaux. Toutefois, l'hétéroside y est déjà plus abondant que dans les capitules fleuris.

Quant aux akènes mûrs, s'ils sont surtout riches en huile et en protides, leur réserve glucidique n'en est pas moins relativement importante. Elle est surtout constituée par du saccharose (près de 3 % du poids frais), dont l'identité est suffisamment précisée par la valeur de l'indice de réduction, très voisin de 600, mais qui a néanmoins été extrait et identifié à l'état cristallisé, par la méthode de Ch. TANRET (82). De son côté, l'hétéroside y atteint une concentration qui n'est réalisée nulle part ailleurs

dans la plante, puisqu'elle s'élève à 2,72 % du poids frais et à près de 3 % du poids sec¹. C'est précisément cette circonstance qui m'a permis d'en tenter l'extraction à partir des akènes et d'étudier son comportement au cours de la germination.

Conclusion.

En résumé, tous les organes de la Céphalaire de Syrie, depuis les racines jusqu'aux fruits mûrs, renferment les mêmes glucides solubles, à savoir un mélange en proportions variables d'oses simples, de saccharose et d'un hétéroside lévogyre dédoublable par l'émulsine.

La réserve glucidique ne comporte ni amidon, ni fructosanes.

Signalons, en outre, que si le tanin est pratiquement absent de toutes les parties de la plante, sauf à l'état de traces, on peut déceler dans les organes végétatifs et les téguments des akènes mûrs la présence d'une substance présentant les réactions de l'acide chlorogénique. Cette substance est particulièrement abondante dans le parenchyme cortical de la racine et de la tige, ainsi que dans le tissu chlorophyllien de la feuille, où elle a pu être localisée facilement sur des coupes fraîches, par la coloration verte qu'elle donne avec l'ammoniaque au 1/5, suivant la technique décrite par POLITIS (72).

II. — ÉVOLUTION DES GLUCIDES AU COURS DE LA VÉGÉTATION ANNUELLE

Pour suivre la destinée de ces glucides, et particulièrement celle de l'hétéroside, au cours de la végétation annuelle de la Céphalaire de Syrie, il a été procédé à des essais biochimiques réguliers aux différents stades de son développement. Et afin d'éliminer, dans toute la mesure du possible, les causes de variation tenant à la nature du sol, au climat, à l'altitude ou à tout autre facteur extrinsèque, la culture de cette espèce a été entreprise dans un terrain d'expérience sans engrais, uniformément ensoleillé, à partir d'un lot de graines de même poids et de même taille, issues de plantes sauvages, il est vrai, mais provenant d'une région très circonscrite de l'intérieur du pays syrien (Plaine du Hauran). Cette culture a été effectuée au cours des six premiers mois de l'année 1947, dans le jardin de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Beyrouth.

Renseignements sommaires sur le cycle végétatif.

Semées fin janvier, les graines ont germé en une dizaine de jours et les premières plantules ont apparu vers le 15 février. Les axes végétatifs se sont développés peu à peu pour atteindre leur taille maximum vers le 15 avril. A cette date apparaissent les premiers capitules qui commencent à s'épanouir vers le 1^{er} mai. La floraison se poursuit durant une quinzaine de jours,

1. Évaluation faite uniquement sur la fraction glucidique. La teneur réelle en hétéroside atteint le double de ces chiffres, puisqu'il fournit environ 50 % de sucre à l'hydrolyse.

sur de nouveaux capitules apparus, alors que les premiers sont déjà en fructification. La maturation des fruits s'achève vers le 8 juin, date à laquelle sont effectués les derniers prélèvements.

Soumises au départ à des pluies nombreuses, les plantes ont été largement ensoleillées durant toute la période de végétation active. La température extérieure est montée progressivement de + 10° à + 25° en moyenne, sans grandes variations mensuelles. Les conditions climatiques favorables régnant habituellement sur le littoral libanais stimulent vigoureusement la végétation et expliquent l'allure rapide du cycle annuel.

Les prélèvements étaient opérés à intervalles de 15 jours, le matin toujours à la même heure, sur des pieds choisis aussi semblables que possible. Les organes étant séparés, pesés et hachés grossièrement, on les stabilisait aussitôt et on les soumettait à l'extraction alcoolique. On déterminait en même temps sur un échantillon moyen le pourcentage en eau et la teneur en matière sèche.

Calcul des résultats.

Pour chaque organe analysé, les résultats sont rapportés tout d'abord à 100 gr. de tissu frais. On peut se faire ainsi une idée approximative de la variation des constituants d'un organe à l'autre au même stade de la végétation, mais on s'expose de cette manière à des erreurs plus ou moins considérables si l'on examine la teneur en glucides d'un même organe aux différentes époques du cycle annuel. L'hydratation des tissus variant beaucoup au cours du développement, les résultats rapportés au tissu frais n'ont plus qu'une signification incertaine. Et si, pour éviter cet écueil, on les établit par rapport à la matière sèche, on n'est pas sûr que le poids de celle-ci ne se modifie pas sensiblement d'un prélèvement à l'autre, du fait notamment de l'augmentation de la teneur en cellulose.

R. COMBES a justement mis en lumière cette cause d'erreur et la nécessité de choisir un point de comparaison plus sûr. Dans son précis de Biologie végétale, il écrit en effet : « Les résultats de l'analyse chimique des organismes ne sont utilisables en biologie que lorsqu'ils sont rapportés, non à quelque chose qui varie au cours des phases de développement considérées, tels que le poids de la substance sèche ou celui de la substance fraîche, mais à quelque chose qui ne varie pas, par exemple à un nombre d'individus déterminés et choisis aussi semblables que possible entre eux : 100 graines, 100 plantules, 100 plantes » (30).

Me conformant à cette manière de voir, comme l'a déjà fait J. CHEYMOL pour l'étude du Verbénalosite (24), j'ai pris soin, lors de chaque récolte, de noter le poids de 100 plantes ou parties de plantes, choisies de même taille et de même force.

Dans les tableaux qui vont suivre, la teneur en glucides calculée pour 100 organes sera donc consignée au regard des chiffres obtenus pour chacun de ces organes par rapport à 100 gr. de tissu frais. Cette confrontation, surtout traduite en courbes de variation, permettra de mieux saisir la discordance existant entre ces deux séries de résultats, et, partant, de confirmer le bien-fondé de la méthode de calcul préconisée par R. COMBES.

Évolution des glucides dans les feuilles (voir tableau 1).

L'indice invertine oscillant autour de 600-700, c'est vraisemblablement du saccharose que les feuilles élaborent en même temps que des oses simples, sans qu'on puisse

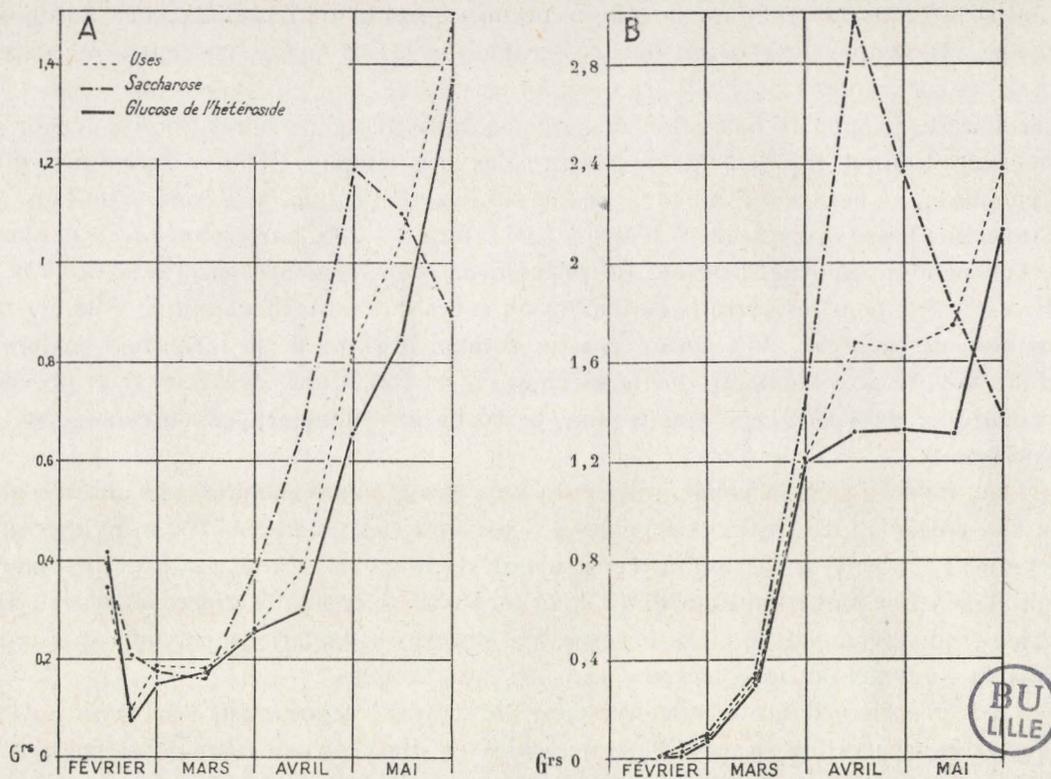


FIG. 1. — *Cephalaria syriaca* L. — ÉVOLUTION DES GLUCIDES DANS LES FEUILLES
(A. pour 100 grammes) (B. pour 100 parties)

TABLEAU 1.

Cephalaria syriaca L. — Évolution des glucides dans les feuilles.

DATE DES PRÉLÈ- VEMENTS	MA- TIÈRE SÈCHE pour 100 grs.	DÉVIATION OPTIQUE			OSES SIMPLES		SACCHAROSE		GLUCOSE DE L'HÉ- TÉROSIDE		TOTAL DES GLUCIDES		INDICES	
		α_1	α_2	α_3	pour 100 grs.	pour 100 part.	pour 100 grs.	pour 100 part.	pour 100 grs.	pour 100 part.	pour 100 grs.	pour 100 part.	Inver- tine	Émul- sine
15 févr..	16,83	— 1°40'	— 2°15'	— 25'	0,344	0,008	0,396	0,010	0,415	0,010	1,155	0,028	678	226
22 févr..	11,20	— 30'	— 42'	+ 13'	0,100	0,025	0,210	0,052	0,078	0,019	0,388	0,096	546	252
1 ^{er} mars.	11,26	— 30'	— 45'	— 10'	0,187	0,089	0,180	0,086	0,152	0,072	0,519	0,247	720	258
15 mars.	12,94	— 10'	— 24'	— 8'	0,180	0,324	0,166	0,298	0,174	0,313	0,520	0,935	690	276
1 ^{er} avril.	15,90	— 30'	— 63'	— 6'	0,262	1,215	0,376	1,416	0,260	1,206	0,892	3,837	660	270
15 avril.	20,11	— 25'	— 63'	+ 5'	0,383	1,680	0,679	2,994	0,300	1,323	1,362	5,997	1074	264
1 ^{er} mai..	23,25	— 1°49'	— 2°48'	— 20'	0,825	1,650	1,188	2,377	0,656	1,332	2,669	5,359	1206	225
15 mai..	24,69	— 2°30'	— 4°10'	— 10'	1,050	1,745	1,100	1,826	0,845	1,314	2,995	4,885	660	211
1 ^{er} juin..	31,84	— 4°	— 5°20'	+ 50'	1,525	2,379	0,890	1,388	1,365	2,129	3,780	5,896	666	216

dire si le sucre de canne est ou non le premier produit de l'assimilation chlorophyllienne. Après une forte baisse initiale (graphique 1), on voit la concentration de ces glucides par rapport au poids frais augmenter parallèlement, avec prédominance du saccharose, jusqu'à la formation des organes reproducteurs, après quoi la teneur en holoside diminue rapidement au bénéfice des oses simples. Il est à remarquer qu'à l'époque de la floraison l'indice de réduction enzymolytique de l'oside tributaire de l'invertine passe brusquement de 600 à 1.074, puis à 1.206, pour retomber de nouveau à 660 pendant la fructification. Ce phénomène, déjà constaté par POUSSET (73) et RABATÉ (74) pour les extraits de feuilles au cours de l'essai biochimique d'un certain nombre de plantes¹, doit-il s'interpréter comme le signe de la formation passagère d'un polyose plus condensé que le saccharose, du fait d'une élévation de la pression osmotique, ou faut-il n'y voir qu'une perturbation momentanée entraînée par la floraison ?

Quoi qu'il en soit, la baisse initiale du taux des glucides foliaires ne s'observe plus si l'on considère les chiffres rapportés à l'ensemble des feuilles de 100 individus (graphique 1). L'activité assimilatrice se manifeste alors dès l'apparition de la chlorophylle par une élévation immédiate de la teneur en sucres et le processus se poursuit ainsi graduellement jusqu'à la floraison, qui marque la disparition partielle du saccharose et l'augmentation correspondante des oses simples.

La même discordance se retrouve dans l'étude des variations de l'hétéroside. Alors que la concentration de ce dernier (calculée en glucose) par rapport au poids frais subit au départ de la végétation une diminution parallèle à celle des autres glucides, les chiffres rapportés à 100 parties d'organes foliaires montrent au contraire une augmentation presque constante du taux de cette substance durant tout le cycle végétatif. L'hétéroside finit par représenter à lui seul plus du tiers du total des glucides, ce qui se traduit par une augmentation graduelle vers la gauche du pouvoir rotatoire initial, qui passe à -4° à l'époque du flétrissement des feuilles.

L'élaboration de l'hétéroside est-elle en rapport direct avec l'assimilation chlorophyllienne, ou résulte-t-elle d'un processus de fixation du glucose sur un produit accessoire de cette assimilation ? Il est impossible de répondre à cette question, dans l'état actuel de nos connaissances sur la physiologie des hétérosides (30). Un fait est en tout cas à retenir, c'est l'étroite corrélation qu'on peut observer sur les graphiques entre les taux respectifs de l'hétéroside et du réducteur initial, toute variation de celui-ci entraînant une variation parallèle de l'hétéroside, comme si l'élaboration de ce dernier était sous l'étroite dépendance de la concentration en oses simples.

1. Entre autres l'*Aucuba japonica* et l'*Amelanchier vulgaris* MENCH. On retrouve aussi, artificiellement, par action des anesthésiques volatils, et notamment de la vapeur d'éther, une variation de l'indice invertine des extraits de feuilles de diverses espèces, comparable à celle qui vient d'être signalée à certaines périodes de la végétation. Cette variation, signalée par R. PARIS (70) peut aller de 1.200 à 1.800. Elle est interprétée par lui comme l'indice possible de la formation d'autres holosides de nature inconnue.

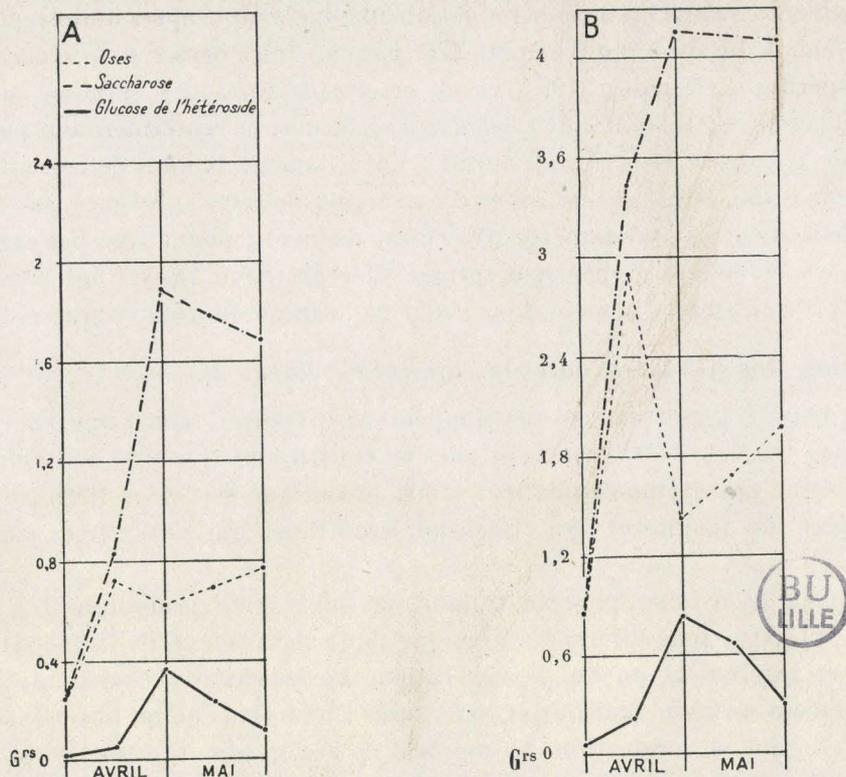


FIG. 2. — *Cephalaria syriaca* L. — ÉVOLUTION DES GLUCIDES DANS LES TIGES
(A. pour 100 grammes) (B. pour 100 parties)

TABLEAU 2.

Cephalaria syriaca L. — Évolution des glucides dans les tiges.

DATE DES PRÉLÈ- VEMENTS	MA- TIÈRE SÈCHE pour 100 grs.	DÉVIATION OPTIQUE			OSES SIMPLES		SACCHAROSE		GLUCOSE DE L'HÉ- TÉROSIDE		TOTAL DES GLUCIDES		INDICES	
		α_1	α_2	α_3	pour 100 grs.	pour 100 tiges	pour 100 grs.	pour 100 tiges	pour 100 grs.	pour 100 tiges	pour 100 grs.	pour 100 tiges	Inver- tine	Émul- sine
1 ^{er} avril.	22,02	— 5'	— 20'	— 20'	0,250	0,860	0,250	0,860	0,020	0,068	0,520	1,788	780	240
15 avril..	20,82	— 10'	— 1°18'	— 1°03'	0,725	2,900	0,836	3,344	0,054	0,219	1,615	6,463	738	216
1 ^{er} mai..	36,96	+ 1°40'	— 2°06'	— 32'	0,625	1,437	1,895	4,358	0,367	0,844	2,887	6,639	502	234
15 mai..	41,04	+ 1°30'	— 1°29'	— 29'	0,700	1,687	1,790	4,325	0,240	0,686	2,730	6,698	600	240
1 ^{er} juin..	39,96	+ 25'	— 1°34'	— 30'	0,775	1,976	1,690	4,309	0,118	0,300	2,583	6,585	852	235

L'augmentation de l'indice de réduction enzymolytique après émulsine, surtout sensible avant la floraison, où il atteint 276, pouvait faire penser à un mélange de l'hétéroside spécifique, d'indice 210, avec un hétéroside surajouté, d'indice supérieur. J'ai donc recherché si les feuilles de *Cephalaria syriaca* L. ne renfermeraient pas de méthylglucoside β , comme WATTIEZ en aurait trouvé dans les feuilles de certaines Dipsacées européennes (88, 89). Les tentatives d'extraction de cette substance, faites en suivant scrupuleusement la technique de WATTIEZ, ne m'ont donné que des résultats négatifs. Si les feuilles de *Cephalaria syriaca* L. renferment un second hétéroside justifiable de l'émulsine, il ne peut donc s'agir en l'espèce du méthylglucoside β .

Évolution des glucides dans la tige (voir tableau 2).

Les tiges de Céphalaire se développent tardivement, alors que l'activité chlorophyllienne est déjà très intense, et elles se constituent très vite en hampes florifères. Il n'est donc pas étonnant que leur stock glucidique soit sous l'étroite dépendance de l'apport des feuilles et de l'utilisation simultanée qui en est faite par les organes floraux.

La teneur en oses simples par rapport au poids frais (graphique 2) s'accroît donc jusqu'à mi-avril, puis diminue à l'époque de la floraison et de la fructification pour se relever légèrement en fin de végétation. Le saccharose s'accumule dans la tige parallèlement au réducteur initial, sans subir l'hydrolyse qu'on observe fréquemment dans cet organe de conduction. Au moment de la floraison, son taux y est même supérieur à celui de la racine et on voit se former à cette époque un peu d'amidon dans la moelle. Il baisse ensuite légèrement au cours de la fructification, sans doute parce qu'à ce moment l'appel de glucides vers les capitules se fait plus intense et que le déficit n'est plus compensé par l'apport des feuilles. Les chiffres fournis pour le saccharose par rapport à 100 tiges concordent assez bien avec ceux qu'on obtient par rapport au poids frais.

Par contre, la tige ne semble pas constituer un lieu d'accumulation de l'hétéroside. Le taux de ce dernier subit des fluctuations en rapport direct avec la formation des organes floraux mais surtout des fruits. Il présente d'abord un accroissement parallèle à celui du saccharose, quoique plus faible. Dès l'époque de la floraison, et à mesure que s'effectue la maturation des fruits, il disparaît progressivement des tiges pour s'accumuler en partie dans les infructescences, en partie dans la racine. La tige peut donc être considérée comme un simple lieu de passage pour cette substance, et son étude physiologique n'apporte aucune lumière sur le rôle de l'hétéroside dans la Céphalaire de Syrie.

Évolution des glucides dans la racine (voir tableau 3).

Au départ de la végétation, quand les plantules ne possèdent encore que leurs cotylédons verdis, les jeunes racines ne renferment qu'un mélange de réducteur et de saccharose, avec des traces d'hétéroside à peine décelables (graphique 3). Au fur

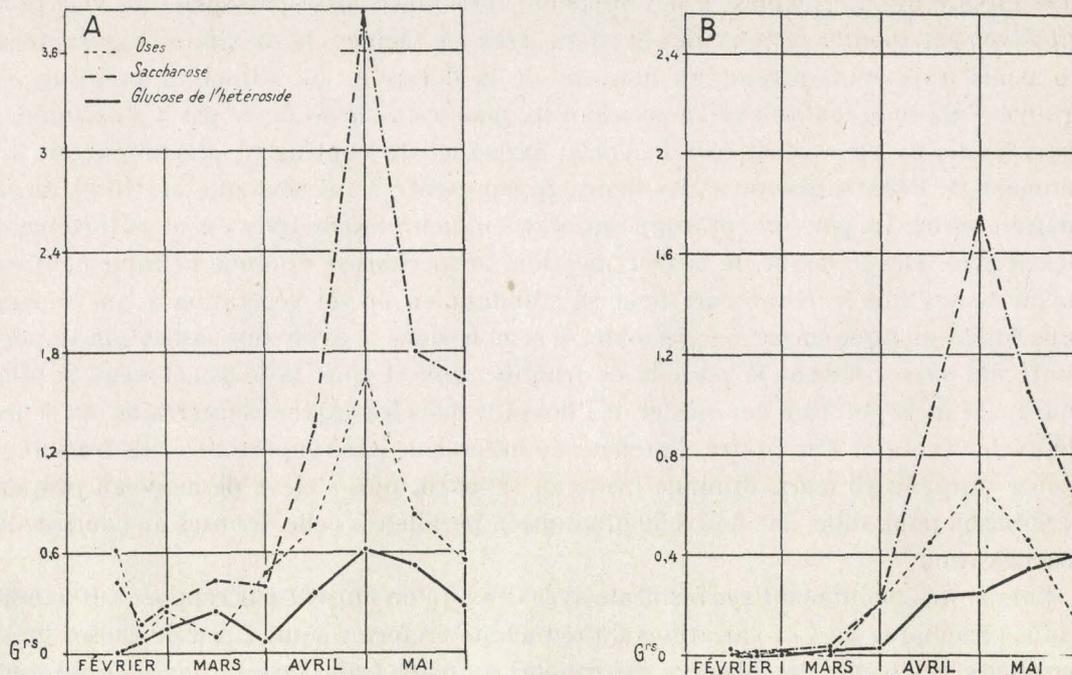


FIG. 3. — *Cephalaria syriaca* L. — ÉVOLUTION DES GLUCIDES DANS LES RACINES
(A. pour 100 grammes) (B. pour 100 parties)

TABEAU 3.

Cephalaria syriaca L. — Évolution des glucides dans les racines.

DATE DES PRÉLÈ- VEMENTS	MA- TIÈRE SÈCHE pour 100 grs.	DÉVIATION OPTIQUE			OSES SIMPLES		SACCHAROSE		GLUCOSE DE L'HÉTÉ- ROSIDE		TOTAL DES GLUCIDES		INDICES	
		α_1	α_2	α_3	pour 100 grs.	pour 100 rac.	pour 100 grs.	pour 100 rac.	pour 100 grs.	pour 100 rac.	pour 100 grs.	pour 100 rac.	Inver- tine	Émul- sine
15 févr..	9,72	- 25'	- 1°05'	- 1°05'	0,625	0,022	0,425	0,015	0	0	1,050	0,037	637	—
22 févr..	10,72	0	- 16'	+ 16'	0,100	0,006	0,162	0,017	0,063	0,004	0,325	0,027	606	241
1 ^{er} mars.	13,48	- 25'	- 52'	- 19'	0,250	0,017	0,275	0,019	0,131	0,012	0,456	0,048	610	240
15 mars.	13,07	- 15'	- 53'	+ 12'	0,104	0,011	0,421	0,046	0,262	0,028	0,787	0,085	660	241
1 ^{er} avril.	17,85	- 5'	- 36'	- 18'	0,387	0,208	0,400	0,216	0,079	0,042	0,866	0,466	780	244
15 avril..	32,57	+ 1°20'	- 1°08'	+ 26'	0,687	0,480	1,360	0,952	0,368	0,257	2,415	1,689	552	234
1 ^{er} mai ..	38,06	+ 5°20'	- 2°07'	+ 35'	1,625	0,731	3,835	1,725	0,617	0,277	6,077	2,733	514	228
15 mai ..	36,08	+ 2°15'	- 1°03'	+ 1°18'	0,825	0,495	1,800	1,080	0,525	0,315	3,150	1,890	545	222
1 ^{er} juin..	40,74	+ 2°30'	- 30'	+ 47'	0,550	0,192	1,628	0,569	0,279	0,404	2,457	1,165	542	216

et à mesure que les feuilles se développent, après une baisse passagère, on voit progressivement monter le taux des glucides dans les racines, le maximum par rapport au poids frais étant atteint au moment de la floraison. Le réducteur préformé se trouve d'abord à égalité avec le saccharose, mais celui-ci ne tarde pas à s'accumuler dans les tissus pour constituer l'élément principal du contingent glucidique, et, au moment de l'épanouissement des fleurs, il représente à lui seul plus de 10 % de la matière sèche. Le pouvoir rotatoire initial des liqueurs extractives est alors fortement dextrogyre. Dès le début de la fructification, le saccharose diminue brusquement en même temps que le réducteur, pour se stabiliser en fin de végétation à une teneur plus faible quoique encore appréciable. Il semble donc y avoir une utilisation importante des sucres durant la période de fructification et c'est là le phénomène le plus marquant de l'évolution des oses et de l'holoside dans les organes souterrains, au cours du cycle végétatif. Par contre, la teneur en hétéroside par rapport au poids frais augmente jusqu'au 15 mars, diminue jusqu'au 1^{er} avril, puis s'élève de nouveau jusqu'à la floraison pour subir une nouvelle diminution parallèle à celle des oses au cours de la fructification.

Comparons maintenant ces résultats avec ceux qu'on obtient par rapport à 100 individus (graphique 3). Les variations du réducteur préformé sont, à peu de choses près, parallèles à celle que l'on observe par rapport au poids frais. Celles du saccharose sont beaucoup plus régulières. Sans présenter la baisse initiale obtenue avec le précédent mode de calcul, le saccharose s'accumule progressivement dans les racines jusqu'au début de la fructification, pour baisser ensuite considérablement jusqu'en fin de végétation. Mais c'est en ce qui concerne l'évolution de l'hétéroside que les résultats sont ici d'une interprétation indiscutablement plus claire. Alors que son taux par rapport au poids frais présente des oscillations inexplicables, on le voit ici monter régulièrement du début à la fin de la végétation, sans qu'on puisse par surcroît constater de diminution au cours de la floraison et de la fructification. L'hétéroside ne semble donc pas être touché par ces processus, bien au contraire, puisque son taux continue à s'élever durant la maturation des fruits. Cette constatation n'est pas en faveur d'une utilisation de l'hétéroside par la plante adulte. Comme la racine est destinée à se flétrir ensuite, on est amené à le considérer, sinon comme un déchet, du moins comme un produit d'accumulation passive résultant peut-être d'une élaboration surabondante dans les organes foliaires au cours de la synthèse chlorophyllienne.

Évolution des glucides dans les organes reproducteurs (voir tableau 4).

Les glucides livrés aux inflorescences par le sommet des tiges florifères n'y subissent pas de transformation profonde. C'est toujours un mélange de réducteur, d'holoside d'indice variable, mais où le saccharose est certainement présent, et d'hétéroside, qu'on retrouve dans les capitules du début de la floraison à la fin de la fructification. Le taux seul en varie suivant les différentes étapes du processus reproducteur (graphique 4).

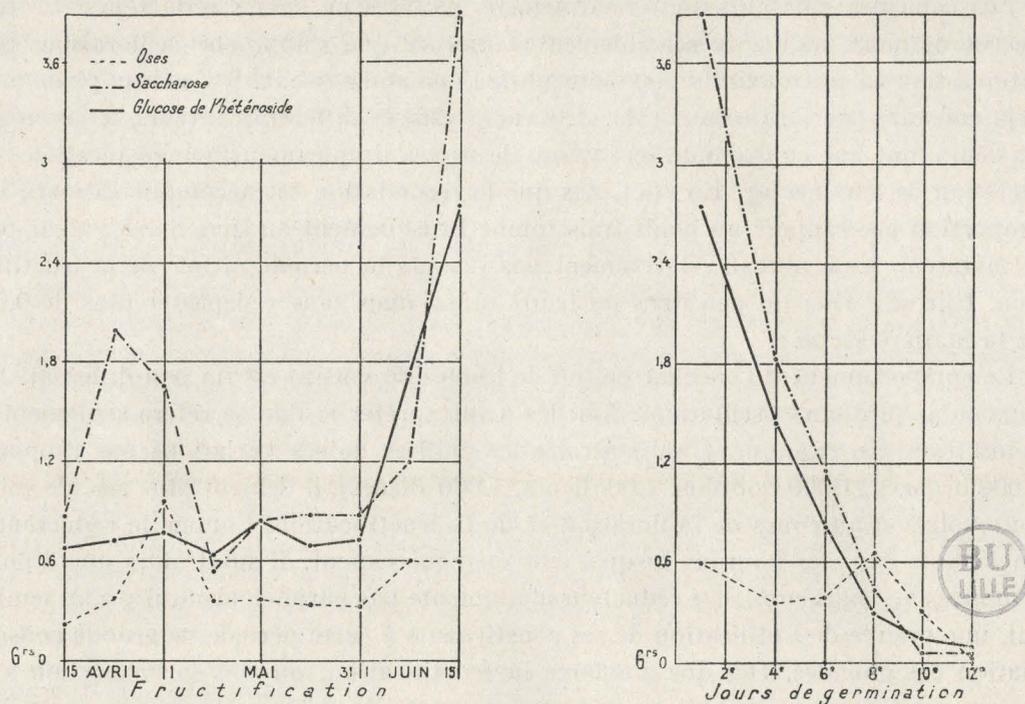


FIG. 4. — *Cephalaria syriaca* L. — ÉVOLUTION DES GLUCIDES AU COURS DE LA FRUCTIFICATION ET DE LA GERMINATION (pour 100 grammes)

TABEAU 4.

Cephalaria syriaca L. — Évolution des glucides dans les organes reproducteurs.

DATE DES PRÉLÈVEMENTS	MATIÈRE SÈCHE pour 100 grs.	DÉVIATION OPTIQUE			OSES SIMPLES		HOLOSIDE		GLUCOSE DE L'HÉTÉROSIDE		TOTAL DES GLUCIDES		INDICES	
		α_1	α_2	α_3	pour 100 grs.	pour 1.000 org.	pour 100 grs.	pour 1.000 org.	pour 100 grs.	pour 1.000 org.	pour 100 grs.	pour 1.000 org.	Inver-tine	Émul-sine
15 avril..	27,40	— 1°45'	— 2°48'	— 10'	0,205	0,004	0,871	0,020	0,682	0,015	1,758	0,039	828	260
22 avril..	34,62	— 1°15'	— 5°41'	— 1°41'	0,375	0,015	1,985	0,079	0,730	0,029	3,090	0,123	447	182
1 ^{er} mai ..	39,44	— 2°05'	— 4°09'	— 1°18'	0,975	0,073	1,650	0,123	0,787	0,059	3,412	0,255	798	276
8 mai ...	38,32	— 45'	— 1°18'	+ 12'	0,375	0,045	0,550	0,066	0,630	0,075	1,555	0,186	996	240
15 mai ..	29,98	— 3°10'	— 4°12'	+ 15'	0,375	0,052	0,837	0,117	0,835	0,116	2,047	0,285	810	187
22 mai ..	39,88	— 2°10'	— 3°30'	0	0,325	0,060	0,880	0,164	0,709	0,132	1,914	0,356	660	202
1 ^{er} juin..	64,37	— 2°20'	— 3°39'	0	0,325	0,063	0,882	0,171	0,730	0,142	1,937	0,376	666	199
8 juin ...	68,39	— 2°	— 8°10'	0	0,625	0,078	1,208	0,348	1,733	0,217	3,566	0,643	600	204
15 juin..	89,16	— 6°40'	— 13°07'	0	0,593	0,118	3,897	0,779	2,720	0,676	7,210	1,573	603	207

Les capitules naissants sont relativement pauvres en sucres réducteurs. Le taux de ces derniers augmente sensiblement à mesure que s'approche la floraison, pour atteindre sa valeur maximum au moment de l'épanouissement. Il y a là un phénomène déjà constaté par R. COMBES (31), J. CARLES (20) et différents auteurs, à savoir que les fleurs font une consommation intense de sucres simples pour leur respiration et la sécrétion de leur nectar. En effet, dès que la fécondation est accomplie (8 mai), leur proportion par rapport au poids frais tombe brusquement au tiers de sa valeur pour se maintenir à un niveau relativement bas jusqu'à la période ultime de la fructification. Elle se relève un peu dans les fruits mûrs, mais sans y dépasser plus de 0,5 % de la matière sèche.

Le comportement du saccharose (ou de l'holoside voisin) est un peu différent. Son taux subit plusieurs oscillations difficiles à interpréter si l'on se réfère seulement au poids frais. En examinant au contraire les chiffres de ses variations par rapport à 1.000 organes (1.000 boutons, 1.000 fleurs, 1.000 akènes), il devient plus aisé de suivre son évolution au cours de la floraison et de la fructification. Comme le réducteur, il s'accumule dans les boutons jusqu'à leur épanouissement. Il subit alors une diminution massive, mais comme le réducteur n'augmente pas parallèlement, il y a là, semble-t-il, une preuve de l'utilisation de ses constituants à cette période de grande consommation des glucides. Dès que s'amorce la fructification, on voit sa proportion s'accroître régulièrement jusqu'à la maturité complète des akènes. Le saccharose y joue sans doute un rôle de réserve concurremment avec les lipides.

En est-il de même de l'hétéroside ? Comme le saccharose, il s'accumule progressivement dans les capitules au cours de la floraison et de la fructification, sans subir aucun fléchissement lors de l'épanouissement des fleurs. Il atteint finalement dans les akènes mûrs une concentration de plus du tiers du contingent glucidique, ce qui fait reculer de plus en plus vers la gauche la déviation optique initiale. Faut-il le considérer comme un déchet ou au contraire comme un produit de réserve au même titre que le saccharose dont il suit à peu de choses près les variations croissantes ? C'est en examinant sa destinée au cours de la germination qu'on aura sans doute un éclaircissement sur ce point important.

III. — ÉVOLUTION DES GLUCIDES AU COURS DE LA GERMINATION

Technique.

La technique exposée précédemment a été légèrement modifiée pour l'essai biochimique des akènes en fructification et en germination, du fait de la présence d'une abondante proportion de lipides dans les graines. Il était nécessaire en effet de les délipider avant d'opérer l'extraction alcoolique des glucides.

J'ai songé tout d'abord à adopter la méthode de CAHN (18) qui enlève en bloc lipides et glucides solubles par un épuisement prolongé à l'alcool dans l'appareil de

Kumagava-Suto, mais cette méthode ne permet la récupération ultérieure des glucides que dans des conditions difficiles à réaliser. C'est pourquoi j'ai préféré procéder à l'extraction des glucides solubles, après stabilisation et épuisement des lipides à l'éther dans l'appareil de Kumagava, ces opérations successives s'effectuant dans la cartouche de l'appareil pour éviter toute perte de substance.

La technique résumée est la suivante :

Germination. — Stabilisation. — Extraction des lipides.

Les graines, préalablement stérilisées par immersion de 30 secondes dans une solution à 1 % de chlorure mercurique, sont mises à germer par lots d'environ un millier dans des cuvettes, entre deux couches de papier filtre reposant sur de la pierre ponce imbibée d'une solution nutritive minérale type Knop, tout le matériel ayant été préalablement stérilisé à l'autoclave.

La germination est effectuée à la température de 25° et à l'obscurité pour éviter toute intervention chlorophyllienne. On prélève alors à intervalles réguliers (tous les trois jours) un minimum de 500 plantules en germination apparente. On pèse ces dernières après avoir enlevé les téguments. Chaque prélèvement est alors divisé en deux lots. Un premier lot est porté à l'étuve à 33° jusqu'à poids constant pour la détermination de la teneur en matière sèche. Un second lot est immédiatement stabilisé à la vapeur d'alcool bouillant durant 20 minutes, broyé au mortier après refroidissement, desséché rapidement à l'étuve à 33°, puis lixivié à l'éther durant 3 heures dans l'appareil de Kumagava.

Extraction des glucides.

La poudre ainsi délipidée est alors épuisée au Kumagava par l'alcool à 85° bouillant pour l'extraction des glucides solubles. Après concentration des liqueurs alcooliques et reprise par l'eau toluénée à dilution convenable, on procède sur la liqueur extractive ainsi obtenue au dosage des glucides suivant la méthode biochimique de BOURQUELOT, en faisant agir successivement la sucrase et l'émulsine comme il a été exposé précédemment.

A titre de comparaison, et afin de rechercher si la graine en germination renferme une diastase spécifique de l'hétéroside, une partie de la liqueur déjà hydrolysée par l'invertine a été soumise à l'action d'une poudre fermentaire de graines germées préparée suivant le procédé de CHEYMOL (23) (voir p. 91). La poudre obtenue a été utilisée à la dose d'environ 1 gr. pour 100 cm³ de liquide.

Marche de la germination.

La germination complète de la Céphalaire de Syrie demande environ douze jours. Après une période de latence de 24 à 48 heures, durant laquelle la graine subit une forte hydratation, on voit apparaître la pointe des radicules, qui se développent ensuite très rapidement en acquérant un pigment pourpre. Vers le huitième jour, les cotylédons se libèrent des téguments, mais ce n'est qu'au dixième jour environ que la plantule est apte à mener une vie indépendante après avoir acquis sa chlorophylle. Si la germination s'effectue à l'obscurité, la consommation des réserves est presque totale vers le douzième jour et la plantule est alors complètement flétrie. Le pourcentage en matière sèche tombe dans ces conditions à moins de 11 %.

Le premier prélèvement a été fait seulement au quatrième jour, au moment de l'apparition des radicules, de manière à posséder un indice certain de la reprise de la vie active (le pourcentage de germination n'est pas supérieur, en effet, à 75-80 %) et à éviter ainsi toute erreur dans l'interprétation des premiers dosages. Les prélèvements suivants ont été effectués à intervalles de deux jours jusqu'à étiolement complet.

Résultats obtenus.

Les résultats obtenus sont consignés dans les tableaux suivants, où l'on peut suivre la marche détaillée des hydrolyses fermentaires :

AKÈNES MURS.

Essai biochimique fait sur 1.000 graines ; 1.000 graines pèsent : 19 gr. 75 environ.

Amande..... : 77,75 % Matière sèche amande : 87,20 %
Téguments secs..... : 22,25 %

	DÉVIATION 1 = 2	RÉDUCTEUR en glucose pour 100 cm ³
Au départ.....	= — 6°40'	R ₁ = 0 gr. 593
Après invertine.....	= — 13°07'	R ₂ = 4 gr. 490
Après émulsine, au 30 ^e jour. . .	= 0	R ₃ = 7 gr. 210
Après poudre fermentaire de graines germées, au 40 ^e jour. . . .	= 0	R ₃ = 7 gr. 200
Par invertine recul.....	6°27'	Par émulsine retour..... 13°07'
Sucre formé.....	3 gr. 897	Sucre formé 30 ^e jour..... 2 gr. 720
Indice.....	603	Indice..... 207

Observations.

L'hydrolyse par la poudre fermentaire conduit aux mêmes résultats que sous l'action de l'émulsine, mais elle demande environ 40 jours pour être totale.

Avec ce complexe fermentaire, le liquide d'hydrolyse présente peu à peu une vive fluorescence vert émeraude, avec coloration jaune rougeâtre par transmission, tandis que le liquide d'hydrolyse par l'émulsine devient jaune sans fluorescence.

GRAINES EN GERMINATION AU QUATRIÈME JOUR.

Essai biochimique fait sur 500 graines à radicule apparente. 1.000 graines pèsent environ 40 gr. Matière sèche de l'amande : 44,25 %.

DÉVIATION POLARIMÉTRIQUE			RÉDUCTEUR EN GLUCOSE POUR 100 cm ³		
α_1	α_2	α_3	R ₁	R ₂	R ₃
— 3°30'	— 6°30'	— 2'	0 gr. 365	2 gr. 200	3 gr. 500
Par invertine recul.....	3°	Par émulsine retour.....	6°28'		
Sucre formé.....	1 gr. 835	Sucre formé 30 ^e jour.....	1 gr. 300		
Indice.....	613	Indice.....	201		

GRAINES EN GERMINATION AU SIXIÈME JOUR.

Essai biochimique fait sur 333 plantules à radicule de 7-8 mm. Les radicules commencent à acquérir un pigment pourpre.

1.000 plantules pèsent 45 grammes. Matière sèche : 35,65 %.

DÉVIATION POLARIMÉTRIQUE			RÉDUCTEUR EN GLUCOSE POUR 100 CM ³		
α_1	α_2	α_3	R ₁	R ₂	R ₃
- 2°55'	4°48'	- 10°	0 gr. 400	1 gr. 568	2 gr. 385
Par invertine recul.....	1°53'		Par émulsine retour.....	4°38'	
Sucre formé.....	1 gr. 168		Sucre formé.....	0 gr. 817	
Indice.....	618		Indice.....	176	

GRAINES EN GERMINATION AU HUITIÈME JOUR.

Essai biochimique fait sur 500 plantules à cotylédons sortant des téguments. On a isolé les axes et les cotylédons pour les traiter séparément.

1.000 plantules pèsent 52 gr. 50. Matière sèche 26,37 %.

	DÉVIATION POLARIMÉTRIQUE			RÉDUCTEUR EN GLUCOSE POUR 100 CM ³			PAR INVERTINE			PAR ÉMULSINE		
	α_1	α_2	α_3	R ₁ gr.	R ₂ gr.	R ₃ gr.	Recul	Sucre formé gr.	In-dice	Re-tour	Sucre formé gr.	In-dice
Axes.....	- 10'	- 39'	- 12'	0,906	1,181	1,260	29'	0,275	564	27'	0,079	174
Cotylédons ..	- 3°07'	- 4°23'	- 27'	0,281	1,050	1,836	1°16'	0,769	606	3°54'	0,786	200
Plantules ent.	- 1°10'	- 2°27'	- 45'	0,666	1,105	1,442	1°42'	0,439	570	1°42'	0,306	180

GRAINES EN GERMINATION AU DIXIÈME JOUR.

Essai biochimique fait sur 500 plantules libérées des téguments. On a séparé comme précédemment les cotylédons et les axes végétatifs. Les cotylédons sont jaunes avec nervures rouges. Les axes ont pris une couleur rouge pourpre.

1.000 plantules pèsent 128 gr. 32. Matière sèche : 11,37 %.

	DÉVIATION POLARIMÉTRIQUE			RÉDUCTEUR EN GLUCOSE POUR 100 CM ³			PAR INVERTINE			PAR ÉMULSINE		
	α_1	α_2	α_3	R ₁ gr.	R ₂ gr.	R ₃ gr.	Recul	Sucre formé gr.	In-dice	Recul	Sucre formé gr.	In-dice
Axes.....	- 40'	- 47'	+ 6'	0,620	0,693	0,852	7'	0,073	624	53'	0,153	174
Cotylédons ..	- 2°46'	- 3°	- 1°08'	0,250	0,380	0,825	14'	0,130	558	1°52'	0,370	198
Plantules ent.	- 1°08'	- 1°17'	- 39'	0,530	0,615	0,728	9'	0,085	636	38'	0,113	180

BU
LILLE

Observations.

Au cours de l'hydrolyse par l'émulsine, le liquide extractif provenant des axes végétatifs prend une coloration rouge vineux. Celui qui provient des cotylédons prend une coloration bleu verdâtre accentuée.

PLANTULES ÉTIOLÉES LE DOUZIÈME JOUR.

Essai biochimique fait sur 400 plantules étiolées, à cotylédons flétris. On a séparé axes et cotylédons comme précédemment. Les axes conservent une couleur pourprée, les cotylédons sont restés jaunes, sans verdissement, et leurs nervures sont rouges.

1.000 plantules pèsent : 134 gr. 82. Matière sèche : 10,54 %.

	DÉVIATION POLARIMÉTRIQUE			RÉDUCTEUR EN GLUCOSE POUR 100 CM ³			PAR INVERTINE			PAR ÉMULSINE		
	α_1	α_2	α_3	R ₁ gr.	R ₂ gr.	R ₃ gr.	Recul	Sucre formé gr.	In- dice	Recul	Sucre formé gr.	In- dice
Axes	0	— 1'	+ 8'	0,037	0,050	0,085	1'	0,013	790	8'	0,035	240
Cotylédons ..	— 2°05'	— 2°37'	— 32'	0,093	0,390	0,840	32'	0,297	558	2°05'	0,450	198
Plantules ent.	— 21'	— 27'	0	0,046	0,103	0,203	6'	0,057	570	27'	0,100	220

Dans le tableau suivant (5), on a rassemblé tous les résultats précédents en mettant en regard la proportion de glucides par rapport à 100 grammes de tissu frais et la proportion calculée pour 1.000 graines ou plantules.

Interprétation des résultats.

Comme précédemment, on prendra surtout en considération les chiffres rapportés à un nombre déterminé d'individus, ici à 1.000 plantules (graphique 5). La teneur en eau passant en effet de 12,8 % à près de 90 % au cours de la germination, avec de gros écarts d'un prélèvement à l'autre, les chiffres rapportés au poids frais subissent des fluctuations qui ne permettent aucune interprétation correcte (voir graphique 4) et il en serait de même si on les rapportait à la matière sèche, du fait de la diminution de toutes les réserves.

Évolution des oses simples.

Dès le quatrième jour de la germination, le taux du réducteur initial subit une ascension continue, pour atteindre son maximum au moment où la plantule est apte à mener une vie indépendante. Quand survient la phase d'étiollement, il baisse d'une manière massive, consommé en moins de 48 heures par les besoins respiratoires. Les réserves glucidiques et lipidiques étant alors presque épuisées, le déficit en oses simples s'accroît jusqu'à l'étiollement complet.

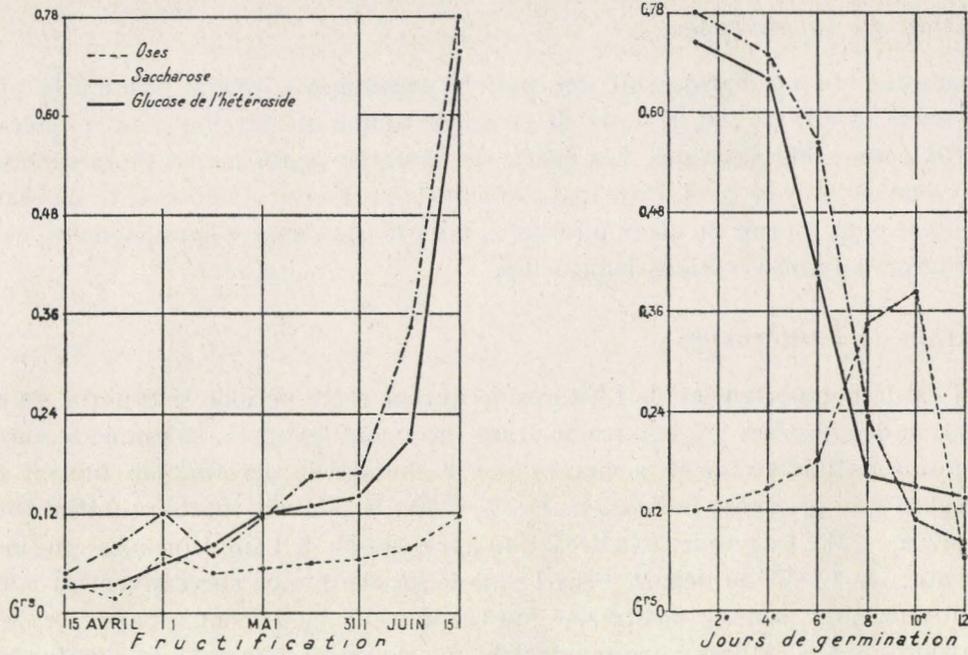


FIG. 5. — *Cephalaria syriaca* L. — ÉVOLUTION DES GLUCIDES AU COURS DE LA FRUCTIFICATION ET DE LA GERMINATION (pour 1.000 organes)

TABLEAU 5.

Cephalaria syriaca L. — Évolution des glucides au cours de la germination.



	MA-TIÈRE SÈCHE %	DÉVIATION $l = 2$			OSES SIMPLES		SACCHAROSE		GLUCOSE DE L'HÉTÉROSIDE		TOTAL DES GLUCIDES		INDICES	
		α_1	α_2	α_3	pour 100 grs.	pour 1.000 org.	pour 100 grs.	pour 1.000 org.	pour 100 grs.	pour 1.000 org.	pour 100 grs.	pour 1.000 org.	In-vertine	Émul-sine
Graines sèches...	87,20	6°40'	13°07'	0	0,593	0,118	3,897	0,779	2,720	0,676	7,210	1,573	603	207
Plantules au 4 ^e j...	44,25	3°30'	6°30'	2'	0,365	0,146	1,835	0,732	1,300	0,580	3,300	1,318	612	201
Plantules au 6 ^e j...	35,65	2°55'	4°48'	10'	0,400	0,180	1,168	0,560	0,817	0,367	2,385	1,107	618	176
Plantules au 8 ^e j...	26,37	1°10'	2°27'	45'	0,666	0,350	0,439	0,230	0,306	0,160	1,411	0,740	570	180
Plantules au 10 ^e j...	11,37	44'	53'	16'	0,296	0,380	0,085	0,108	0,113	0,146	0,494	0,634	636	180
Plantules au 12 ^e j..	10,54	21'	27'	0	0,046	0,063	0,057	0,078	0,100	0,136	0,203	0,277	570	220

Évolution du saccharose.

L'évolution du saccharose suit une marche exactement inverse jusqu'à la phase d'étiollement. De 0 gr. 780, le taux de ce sucre tombe au dixième jour à moins de 0 gr. 108 pour 1.000 plantules. Les écarts de déviation après action de la sucrase se rapprochent de plus en plus. Principal élément de la réserve glucidique, le saccharose s'hydrolyse pour fournir du sucre interverti, dont le taux monte parallèlement, ce qui est conforme aux observations habituelles.

Évolution de l'hétéroside.

Quel est le comportement de l'hétéroside durant cette période si typique de consommation des réserves ? L'hétéroside étant fortement lévogyre, la simple lecture de la déviation initiale au fur et à mesure que se poursuit la germination fournit déjà à cet égard une précieuse indication. De $-6^{\circ}40'$, le pouvoir rotatoire initial tombe peu à peu à $-21'$. Le retour de la déviation après action de l'émulsine n'est pas moins significatif. De $13^{\circ}07'$ au départ, l'écart vers la gauche tombe successivement à $6^{\circ}28'$ au quatrième jour, à $4^{\circ}30'$ au sixième jour et descend finalement à moins de $30'$ en fin d'évolution. Ces chiffres correspondent bien à ceux que fournit le dosage du réducteur après émulsine ou poudre fermentaire de graines germées : de 0 gr. 676 pour 1.000 graines en état de vie ralentie, le glucose libéré par ces ferments aux dépens de l'hétéroside passe à 0 gr. 367 au sixième jour, à 0 gr. 160 au huitième jour et son taux continue ainsi à décroître régulièrement pour se fixer autour de 0 gr. 136 à la phase d'étiollement. Plus des $4/5$ de l'hétéroside disparaissent ainsi au cours de la germination, en même temps que s'accroît le réducteur initial. Et si l'on suit sur un graphique (fig. 5) la courbe de cette disparition, on constate qu'elle suit un tracé exactement parallèle à celui du saccharose, sauf dans la partie terminale qui correspond à un peu d'hétéroside résiduel ayant résisté à l'hydrolyse en fin de germination.

Il y a là, semble-t-il, un argument important en faveur de l'utilisation de l'hétéroside par la plantule durant toute la phase germinative. La présence dans les graines, et spécialement dans les graines en germination (voir p. 91) d'un ferment hydrolysant spécifique, apparenté à la β glucosidase de l'émulsine, et agissant aussi énergiquement que cette dernière sur l'hétéroside, vient encore appuyer cette interprétation. L'hétéroside de Céphalaire de Syrie se comporterait donc, au même titre que le saccharose, comme une substance de réserve, tout au moins par sa fraction glucidique, dont l'utilisation comme aliment respiratoire ou constructif n'est pas discutable, puisqu'il s'agit en l'espèce du glucose *d*.

La destinée de l'aglycone est plus obscure. Il n'a pas été possible de l'isoler quantitativement des liquides d'hydrolyse, et on ne peut que formuler des hypothèses sur les transformations qu'il a pu subir dans la plantule au cours de la germination.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

En résumé, l'évolution biochimique des glucides de la Céphalaire de Syrie se caractérise par les principaux faits suivants :

1° *Le comportement des oses simples est conforme aux constatations habituelles.* Présents partout en quantité variable, ils sont particulièrement abondants dans les capitules et les fleurs pour y subir une consommation massive au moment de leur épanouissement.

2° *Le seul holoside présent d'une manière permanente dans cette espèce semble bien être le saccharose.* Dans aucun organe, ni à aucune période du cycle végétatif, on n'a pu mettre en évidence de fructoholoside. L'amidon n'existe dans la tige que d'une manière exceptionnelle. Et si l'indice de réduction enzymolytique révèle la présence dans les feuilles, à l'époque de la floraison, d'un polyose plus condensé que le saccharose, ce n'est qu'à titre essentiellement transitoire.

Le saccharose est le constituant principal de la réserve glucidique. Formé dans les feuilles, il s'accumule dans les racines jusqu'à l'époque de la fructification. Il s'accumule ensuite dans les akènes en voie de maturation et persiste dans la graine mûre. Durant la germination, il disparaît presque totalement au bénéfice du réducteur.

3° *A toutes les époques de la végétation, les différents organes de la Céphalaire de Syrie renferment un hétéroside lévogyre d'indice voisin de 210, dédoublable par l'émulsine.* Cet hétéroside se forme dans les limbes foliaires, sans qu'on puisse entrevoir le mécanisme de sa synthèse. On constate seulement que sa proportion dans les feuilles suit une marche parallèle à celle des sucres réducteurs. Il circule tel quel dans les tiges, s'accumule dans les racines et les organes reproducteurs jusqu'à la fin de la fructification, sans subir comme le saccharose de variations au cours de l'épanouissement des fleurs. Il n'est donc pas « mobilisable » aussi rapidement que ce dernier, mais si l'on excepte cette différence de comportement au moment de la floraison, son évolution au cours du cycle végétatif est comparable à celle du saccharose. Comme ce dernier glucide, *il semble pouvoir être utilisé, au moins partiellement, comme une substance de réserve.* Plusieurs arguments peuvent être apportés à cette manière de voir :

a) L'élaboration de l'hétéroside a lieu dans les feuilles au cours de l'assimilation chlorophyllienne. Il est vrai que cette constatation ne constitue pas un critère absolu, mais une simple présomption en faveur de son utilisation ultérieure.

b) L'hétéroside de Céphalaire de Syrie se concentre dans les graines concurremment avec le saccharose. Or, la graine est par excellence le lieu d'accumulation des réserves. Il est difficile de concevoir qu'il puisse y être condensé comme un simple déchet, car il se trouve justement localisé dans les parties vivantes de la graine (albumen et cotylédons) et on n'en décèle pas trace dans les téguments.

c) Il disparaît presque totalement au cours de la germination, parallèlement au saccharose. Si la destinée de son aglycone reste encore imprécisée, du moins peut-on

affirmer que sa fraction glucidique, en l'espèce le glucose *d*, est directement utilisée par la plantule.

d) La poudre fermentaire de graines de Céphalaire dédouble l'hétéroside en ses constituants et son activité diastasique se développe précisément au cours de la germination. La poudre fermentaire de graines sèches n'a qu'une activité réduite (voir p. 92).

Ces faits sont en conformité avec les résultats obtenus par différents chercheurs qui ont pu suivre l'évolution des hétérosides au cours de la germination, notamment ceux de GUIGNARD sur le *Phaseolus lunatus* (44), de M^{lle} BRAECKE sur la disparition de l'aucuboside au cours de la germination du *Rhinanthus Crista-Galli* L. et du *Melampyrum arvense* L. (15), de SOLACOLU et WELLES (79), de M^{lle} KORSKOFF (58) et de NÉTIEN (66) sur la diminution partielle de la teneur en saponines des graines de Graminées ou de Caryophyllacées au cours du développement de la plantule.

Ils apportent également une confirmation à l'opinion de H. HÉRISSEY qui écrivait en 1923 : « La présence fréquente... des hétérosides ... dans les graines ne permet pas de les considérer comme de simples déchets : ce seraient, sinon des matières de réserve, proprement dites, du moins des produits de l'activité cellulaire utilisables dans une certaine mesure » (47) ; ainsi qu'à celle de BRIDEL qui, considérant les glucosides comme une seconde réserve, moins mobile, concluait que : « Les plantes vivaces ne doivent consommer cette seconde réserve que très rarement, dans des conditions qui nous échappent encore, alors que les plantes annuelles l'utilisent, au moins en partie, pour germer » (17).

CHAPITRE II

LES GLUCIDES DE LA SCABIEUSE PROLIFÈRE

Morphologie sommaire.

Scabiosa prolifera L. est une espèce très typique du littoral de la Méditerranée orientale. C'est encore une plante annuelle, mais à végétation plus précoce que la Céphalaire de Syrie. On la reconnaît facilement, même avant la floraison, à ses feuilles en rosette vert pâle, ovales, spatulées, et à sa racine pivotante de couleur pourpre. Ses tiges florifères, ramifiées en cymes bipares, portent de larges capitules de fleurs jaune pâle, qui, après fécondation, se transforment en akènes ligneux, côtelés, surmontés d'une couronne membraneuse à cinq arêtes et renfermant une petite graine de saveur légèrement amère. Cette espèce croît dans les terrains argilo-calcaires du littoral, où elle « prolifère » aisément, formant des peuplements assez denses, mais elle reste confinée à la zone côtière du Proche-Orient, notamment au Liban et en Palestine. On la rencontre abondamment dans la région beyrouthaine, et c'est cette circonstance qui me l'a fait choisir parmi les Scabieuses pour en faire une étude biochimique plus poussée, par comparaison avec la Céphalaire de Syrie.

I. — RÉPARTITION DES GLUCIDES DANS LES DIFFÉRENTS ORGANES

Floraison et fructification s'effectuant simultanément, c'est au cours de cette période qu'a été étudiée la répartition des glucides dans la Scabieuse prolifère. Les prélèvements ont été faits sur des plantes sauvages, provenant toutes du même gîte (collines de Ras-Beyrouth). Les échantillons ont été analysés comme précédemment, après stabilisation préalable.

Voir les résultats de cette première investigation tableau p. 36.

Interprétation des résultats.

Feuilles :

On retrouve dans les feuilles de Scabieuse prolifère un contingent glucidique analogue à celui de la Céphalaire de Syrie, à savoir un mélange de sucres réducteurs, d'un oside ayant l'indice du saccharose (594) et d'un hétéroside lévogyre dédoublable

par l'émulsine, mais le total des glucides solubles y est nettement plus faible, tout au moins à l'époque de la floraison. Le taux du saccharose n'y atteint que la moitié de celui du réducteur préformé. L'hétéroside ne s'y trouve qu'en petite quantité. La déviation initiale n'est en effet que faiblement négative et les feuilles ont à peine la saveur amère. L'indice de réduction de cet hétéroside (240) s'écarte peu de celui qui a été observé dans la Céphalaire. Il n'y a ni fructoholoside, ni tanin, ni amidon.

Répartition des glucides dans le *Scabiosa prolifera* L.

	RACINES	TIGES	FEUILLES	CAPITULES NAISSANTS	CAPITULES FLEURIS	FRUITS VERTS	AKÈNES MÛRS
Matière sèche %	33,40	27,70	20,45	—	20,79	25,67	73,52
Déviati on initiale.	+ 35'	— 25'	— 45'	— 3°06'	— 1°15'	— 35'	— 35'
Déviati on invertine.	— 22'	— 1°33'	— 72'	— 3°36'	— 2°34'	— 1°24'	— 1°25'
Déviati on émulsine.	+ 20'	— 26'	— 10'	— 1°36'	— 1°10'	— 19'	0
Déviati on après HCl 2%.	— 24'	— 1°35'	— 72'	— 3°40'	— 2°36'	— 1°24'	— 1°26'
Réducteur initial.	0,365	1,170	0,537	0,666	0,975	0,676	0,625
Réducteur invertine.	0,787	1,870	0,742	0,935	1,365	1,076	1,137
Réducteur émulsine.	0,902	2,100	0,990	1,430	1,680	1,383	1,454
Réducteur après HCl 2%.	0,790	1,872	0,742	0,940	1,368	1,076	1,137
Par invertine recul.	57'	30'	24'	30'	51'	48'	50'
Par invertine sucre formé	0,592	0,700	0,205	0,269	0,390	0,401	0,512
Indice	618	612	594	540	458	491	612
Par émulsine retour.	42'	60'	52'	2°	1°24'	1°05'	63'
Par émulsine sucre formé	0,152	0,230	0,248	0,495	0,315	0,247	0,317
Indice	216	205	240	245	225	228	222
Amidon.	0	0	0	0	0	0	0
Tanin	traces	traces	traces	0	0	0	0
Acide chlorogénique	dans le parenchyme cortical	dans le parenchyme cortical	dans le parenchyme chlorophyllien	0	0	traces	0

Tiges :

Le mélange de glucides se modifie sensiblement dans les tiges, sans toutefois varier de nature. Le réducteur et le saccharose voient doubler leur proportion respective par rapport à celle des feuilles. Le taux de l'hétéroside reste inchangé par rapport au poids frais, mais son indice s'affaiblit à 205.

Racines :

A l'époque de la floraison, l'extrait de racines de Scabieuse prolifère est nettement dextrogyre et la sucrase y détermine la formation d'une forte proportion de réducteur

dont l'indice est assez voisin de 600, ce qui fait, ici encore, soupçonner la présence de saccharose. J'ai pu, en effet, obtenir ce sucre à l'état cristallisé par extraction à la baryte et l'identifier au saccharose par ses principales constantes. Il est ici plus abondant que les oses simples, contrairement à ce qu'on observe dans les tiges. Il y a donc condensation et mise en réserve de saccharose dans la racine. Pas plus que dans la Céphalaire, ce sucre n'est accompagné d'un autre holoside plus condensé, du type des fructosanes, comme j'ai pu m'en assurer par l'hydrolyse chlorhydrique. Mais l'hétéroside est toujours présent, quoique en faible quantité.

Capitules :

Les capitules naissants accusent un pouvoir rotatoire initial fortement lévogyre, en même temps que l'émulsine provoque un retour de la déviation vers la droite de + 2°. Relativement riches en oses simples et pauvres en holoside, ils renferment en effet une assez forte proportion d'hétéroside (30 % du total des glucides contre 15 % dans la tige). Il y a donc ici encore concentration accrue de ce principe dans le réceptacle florifère.

Fleurs et fruits :

Cette concentration en hétéroside s'abaisse d'ailleurs dans les capitules en floraison, tandis que le réducteur initial y augmente considérablement, ainsi que l'holoside tributaire de la sucrase, dont l'indice n'atteint ici que 458. S'agit-il encore du saccharose ? Sans doute, semble-t-il, car on voit cet indice s'élever à 491 dans les fruits verts et à 612 dans les akènes mûrs. Ces organes conservent apparemment la même proportion de glucides solubles, mais comme le pourcentage d'hydratation diminue fortement au cours de la fructification, le total de ces glucides s'élève au contraire sensiblement par rapport à la matière sèche, passant de 0,34 % dans les fruits verts à environ 2 % dans les akènes mûrs. Ce total reste néanmoins très inférieur à celui des akènes de Céphalaire, où il atteint près de 7 %. Par surcroît, le taux de l'hétéroside n'est ici que de 0,68 % du poids sec, alors qu'il représente 3 % de la matière sèche des akènes de Céphalaire de Syrie. Cette double constatation constitue déjà une précieuse indication sur la différence de comportement de ces deux espèces quant à la réserve glucidique des graines.

Conclusion.

Ce rapide examen de la répartition des glucides solubles dans la Scabieuse prolifère conduit aux mêmes résultats que pour l'espèce précédente. Les organes végétatifs comme les organes reproducteurs présentent dans les deux cas la même composition glucidique, aux variations quantitatives près. C'est toujours un mélange d'oses simples, de saccharose et d'un hétéroside lévogyre d'indice analogue qu'on y rencontre, à l'exclusion de tout polyholoside condensé tel que l'inuline ou un autre fructosane.

Ajoutons enfin que le tanin n'a pu être mis en évidence dans aucun organe, sauf à

l'état de traces, mais qu'une substance présentant les réactions de l'acide chlorogénique peut y être décelée dans les organes végétatifs, avec la même localisation que dans les organes correspondants de la Céphalaire de Syrie, c'est-à-dire dans les limbes foliaires et dans le parenchyme cortical de la tige et de la racine.

II. — ÉVOLUTION DES GLUCIDES SOLUBLES AU COURS DE LA VÉGÉTATION ANNUELLE

Ne disposant pas au moment où a été entreprise cette étude, d'une quantité assez importante de graines de Scabieuse prolifère pour en faire une culture qui pût suffire à tous les essais biochimiques, j'ai dû me contenter, pour suivre l'évolution des glucides solubles au cours du cycle végétatif, d'effectuer les prélèvements sur des plantes sauvages. L'abondance de cette espèce sur la côte libanaise et la densité de ses peuplements facilitaient par contre le choix des échantillons que j'ai pris soin de récolter aussi semblables que possible dans le même terrain et toujours au même endroit, ce qui éliminait en grande partie les causes de variation extrinsèque qui eussent pu retentir sur les résultats.

Comme pour la Céphalaire de Syrie, les prélèvements étaient faits à intervalles de 15 jours, le matin toujours à la même heure, et les échantillons, amenés rapidement au laboratoire, étaient stabilisés aussitôt et soumis aux opérations d'extraction.

Renseignements sommaires sur le cycle végétatif :

La Scabieuse prolifère germe dès les premières pluies (fin décembre) et de la mi-janvier à avril elle forme de nombreuses feuilles en rosette sur une souche assez volumineuse qui se remplit de réserves. Vers le début d'avril, elle développe ses tiges, puis ses capitules qui arrivent à épanouissement en une quinzaine de jours. La période de fructification s'étend sur un mois environ. La maturation des akènes est achevée vers le 15 mai.

Calcul des résultats :

Tous les résultats sont rapportés comme précédemment, d'une part au poids frais, d'autre part à 100 organes ou 100 parties d'organes comparables, pour que les conclusions aient leur pleine signification.

Évolution des glucides dans les feuilles (tableau 6).

Les feuilles de Scabieuse prolifère ont un pouvoir d'élaboration nettement moindre que celui de la Céphalaire de Syrie, à surface foliaire égale. Le total des glucides solubles n'y atteint jamais 1 % du poids frais, contre 1,5 à 3 % dans l'espèce précédente. Ces feuilles sont surtout riches en sucres réducteurs qui représentent plus de la moitié des glucides durant toute la période d'assimilation intense, alors que le saccharose n'en forme qu'à peine le 1/5 sauf à la fin de la végétation, où il se concentre un peu dans les tissus déjà déshydratés. La valeur de l'indice invertine ne s'écarte guère de

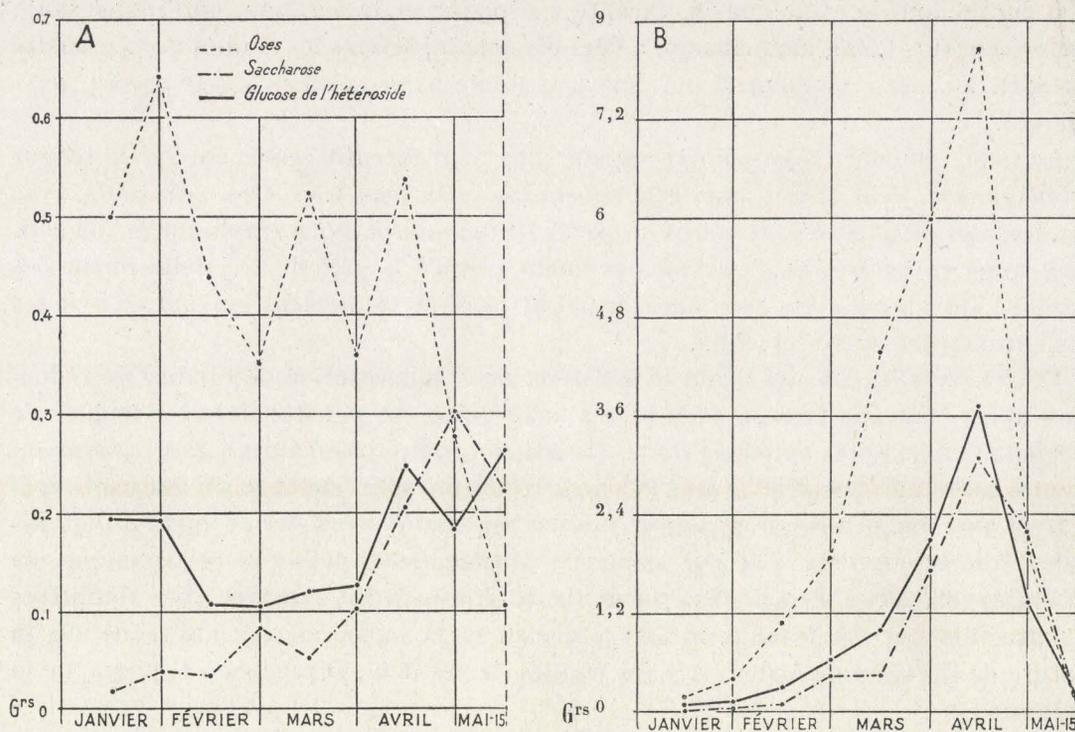


FIG. 6. — *Scabiosa prolifera* L. — ÉVOLUTION DES GLUCIDES DANS LES FEUILLES
(A. pour 100 grammes) (B. pour 100 parties)

TABLEAU 6.

Scabiosa prolifera L. — Évolution des glucides dans les feuilles.



DATE DES PRÉLÈ- VEMENTS	MA- TIÈRE SÈCHE pour 100 grs.	DÉVIATION OPTIQUE			OSES SIMPLES		SACCHAROSE		GLUCOSE DE L'HÉTÉ- ROSIDE		TOTAL DES GLUCIDES		INDICES	
		α_1	α_2	α_3	pour 100 grs.	pour 100 part.	pour 100 grs.	pour 100 part.	pour 100 grs.	pour 100 part.	pour 100 grs.	pour 100 part.	In- ver- tine	Émul- sine
15 janv...		— 20'	— 22'	+ 5'	0,500	0,180	0,020	0,007	0,195	0,070	0,715	0,257	600	217
1 ^{er} févr. .		— 50'	— 54'	0	0,643	0,401	0,039	0,024	0,192	0,120	0,874	0,545	582	213
15 févr. .		— 50'	— 53'	— 20'	0,437	1,075	0,035	0,086	0,118	0,290	0,590	1,451	600	204
1 ^{er} mars ..		— 37'5	— 47'	— 22'	0,352	1,865	0,082	0,434	0,116	0,614	0,550	2,913	546	276
15 mars ..		— 25'	— 30'	— 5'	0,525	4,373	0,052	0,433	0,120	1,005	0,697	5,811	600	280
1 ^{er} avril ..		— 30'	— 35'	— 2'	0,360	5,970	0,102	1,693	0,126	2,091	0,588	9,754	1224	240
15 avril ..		— 48'	— 1 ^o 8'	— 6'	0,537	8,055	0,205	3,075	0,248	3,720	0,990	14,850	594	240
1 ^{er} mai ..	20,45	— 20'	— 52'	0	0,275	1,993	0,302	2,189	0,184	1,334	0,761	5,516	565	240
15 mai ...		— 20'	— 50'	0	0,105	0,042	0,223	0,089	0,262	0,104	0,590	0,235	444	14

600 durant tout le cycle annuel, excepté à l'époque de la floraison, où l'indice saute brusquement à 1.224, anomalie qui a déjà été constatée dans les feuilles de Céphalaire de Syrie au même moment et qui doit sans doute avoir la même cause encore expliquée.

Le faible pouvoir d'assimilation signalé plus haut retentit également sur la teneur en hétéroside. Celle-ci suit assez exactement les variations des sucres réducteurs, avec un décalage de plus en plus marqué à partir de la floraison (voir graphique 6). La concentration en hétéroside n'en croît pas moins jusqu'à la période de jaunissement des feuilles, après quoi cette substance disparaît presque totalement, suivant en cela les vicissitudes des autres glucides.

On retrouve ici, un peu avant la floraison, une augmentation de l'indice de réduction après émulsine presque identique à celle qui a été signalée dans les feuilles de Céphalaire à peu près au même stade. De 204, cet indice passe alors à 280, et se maintient ensuite au voisinage de 240. S'agit-il ici encore d'un mélange du glucoside spécifique avec un hétéroside passager d'indice supérieur, peut-être le méthyl-*d*-glucoside β ? C'est en vain que j'ai, comme précédemment, appliqué la technique de WATTIEZ (88, 89) à l'essai d'isolement de ce glucoside de synthèse. Les tentatives d'extraction ont été totalement infructueuses et la même incertitude règne sur la nature de l'hétéroside élaboré par les feuilles de ces deux Dipsacées à l'époque de la floraison.

Évolution des glucides dans les souches et les tiges florifères (tableau 7).

Le mélange de sucres, livré par la base des feuilles, est principalement constitué, comme on vient de le voir, par des sucres réducteurs, avec une faible proportion de saccharose. A son passage dans les souches, ce mélange se modifie sensiblement ainsi qu'en témoignent les chiffres de la déviation optique et la proportion du réducteur avant et après action de l'invertine. Le rapport du saccharose au sucre interverti, qui était inférieur à 1/10 dans les tissus foliaires, passe ici à 1/2 durant les deux premiers mois de la végétation et reste ensuite au voisinage de 1/3. La traversée des souches semble bien caractérisée par une condensation partielle du sucre interverti en saccharose, condensation qui va s'achever dans les racines où le rapport envisagé s'inverse et devient égal à 2/1. Par leur composition glucidique au cours de l'évolution annuelle, les souches de Scabieuse prolifère se comportent donc bien comme l'intermédiaire physiologique entre les organes aériens et souterrains. Le développement des souches en tiges florifères ne modifie pas essentiellement ce rôle. Durant sa première phase tout au moins, le processus reproducteur n'empêche pas les sucres réducteurs, livrés par les feuilles, dont l'activité assimilatrice est alors à son maximum, de poursuivre à leur passage dans les tiges florifères leur condensation en saccharose, ni à ce dernier de continuer à s'accumuler dans les racines. La concentration de ce sucre dans les tiges passe alors à 0 gr. 70 pour 100 grammes de tissu frais et à 3 gr. 500 pour 100 tiges. Ce n'est qu'à partir de la fructification, vers le 15 avril, que le courant se renverse,

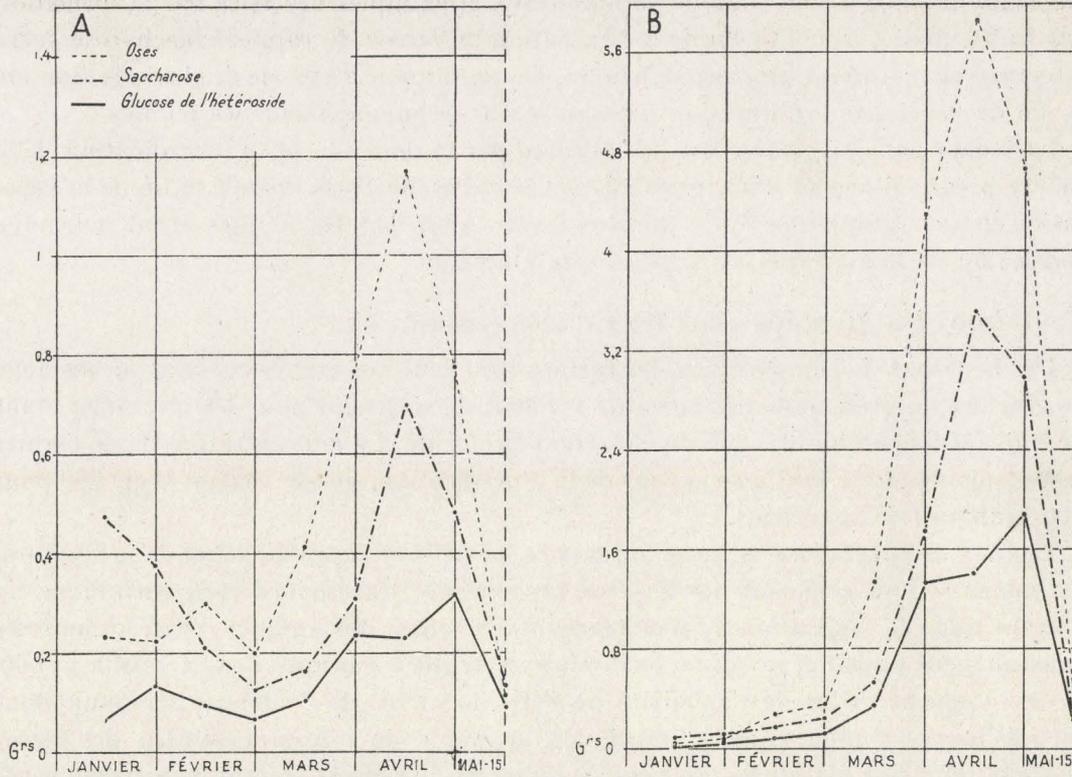


FIG. 7. — *Scabiosa prolifera* L. — ÉVOLUTION DES GLUCIDES DANS LES TIGES
(A. pour 100 grammes) (B. pour 100 parties)

TABLEAU 7.

Scabiosa prolifera L. — Évolution des glucides dans les tiges.



DATE DES PRÉLÈ- VEMENTS	MA- TIÈRE SÈCHE pour 100 grs.	DÉVIATION OPTIQUE			OSES SIMPLES		SACCHAROSE		GLUCOSE DE L'HÉTÉ- ROSIDE		TOTAL DES GLUCIDES		INDICES	
		α_1	α_2	α_3	pour 100 grs.	pour 100 tiges	pour 100 grs.	pour 100 tiges	pour 100 grs.	pour 100 tiges	pour 100 grs.	pour 100 tiges	In- ver- tine	Émul- sine
15 janv. ...		+20'	— 27'	— 5'	0,230	0,027	0,473	0,056	0,066	0,014	0,769	0,097	594	180
1 ^{er} févr. ...		0	— 32'	— 20'	0,224	0,056	0,379	0,095	0,132	0,033	0,735	0,184	708	160
15 févr. ...		— 3'	— 23'	0	0,301	0,258	0,210	0,180	0,095	0,081	0,606	0,519	630	241
1 ^{er} mars ...		— 5'	— 17'	0	0,200	0,350	0,126	0,220	0,066	0,115	0,392	0,685	630	236
15 mars ...		— 10'	— 25'	+ 5'	0,415	1,328	0,162	0,518	0,103	0,332	0,680	2,178	606	205
1 ^{er} avril ...		— 25'	— 40'	— 20'	0,767	4,290	0,309	1,730	0,236	1,321	1,312	7,341	1236	235
15 avril ...		— 25'	— 1°33'	— 26'	1,170	5,850	0,700	3,500	0,230	1,400	2,100	10,750	612	205
1 ^{er} mai ...		— 20'	— 1°08'	— 10'	0,775	4,650	0,485	2,976	0,315	1,890	1,575	9,516	606	325
15 mai ...		+ 5'	— 5'	+ 10'	0,115	0,266	0,135	0,313	0,091	0,211	0,341	0,790	810	360

par suite de l'appel considérable de matériaux glucidiques nécessité par la formation des fruits, mais jusqu'à la fin de la végétation la valeur du rapport saccharose/sucre interverti se maintient presque inchangée. Seule, la quantité totale de glucides diminue en fin de végétation, diminution provoquée par le jaunissement des feuilles.

La teneur en hétéroside n'est pas affectée par la floraison et la fructification. Elle s'élève progressivement dans les souches et les tiges florifères jusqu'à la fin de la végétation active (graphique 7), le surplus fourni alors par les feuilles étant acheminé comme on va le voir vers les organes reproducteurs.

Évolution des glucides dans les racines (tableau 8).

Dès le départ de la végétation, les racines reçoivent des organes aériens un mélange de glucides où prédomine nettement le saccharose, sa teneur pour 100 grammes étant de huit fois supérieure à celle du réducteur préformé. La concentration de ce dernier reste toujours faible sauf au moment de la fructification, où elle atteint 0 gr. 900 pour 100 grammes de tissu frais.

Le taux du saccharose ne cesse par contre de s'élever jusqu'au début de la floraison, du moins si l'on considère les chiffres rapportés à 100 racines (voir graphique 8). Durant toute la végétation, le pouvoir rotatoire initial des liquides d'extraction reste constamment positif et la valeur de l'indice invertine est toujours assez voisine de 600. Tout comme la racine de Céphalaire de Syrie, la racine de Scabieuse accumule donc du saccharose comme réserve transitoire. A partir de l'épanouissement des fleurs, ce sucre subit une hydrolyse progressive, au profit du réducteur dont le taux augmente parallèlement. Et le processus se poursuit jusqu'à la fin de la fructification, après quoi le saccharose disparaît presque totalement en même temps que les autres glucides par suite du flétrissement.

Quant à l'hétéroside, dont l'indice s'écarte à peine du chiffre moyen de 210, il présente un comportement analogue à celui qui a été observé dans la racine de Céphalaire. Son taux pour 100 organes suit tout d'abord exactement celui du réducteur, s'élevant comme lui, graduellement, jusqu'à la floraison. A partir de ce moment, il reste à peu près stationnaire jusqu'à la fin de la fructification. Pas plus que pour la Céphalaire, la destinée de ce produit n'apparaît donc clairement pour les racines de Scabieuse prolifère au cours de l'évolution annuelle. Il semble s'y accumuler passivement suivant l'importance de l'apport fourni par les tiges.

Évolution des glucides dans les organes reproducteurs (tableau 9).

Comme pour la Céphalaire, l'évolution des glucides dans les organes reproducteurs a été suivie à des intervalles assez rapprochés afin de pouvoir saisir les variations rapides de leur composition glucidique durant toutes les phases de la floraison et de la fructification. Les résultats sont rapportés ici encore à la fois à 100 grammes de tissu frais et à 1.000 organes (boutons floraux, fleurs, fruits) (graphique 9).

C'est toujours le même contingent glucidique que l'on observe dans les organes

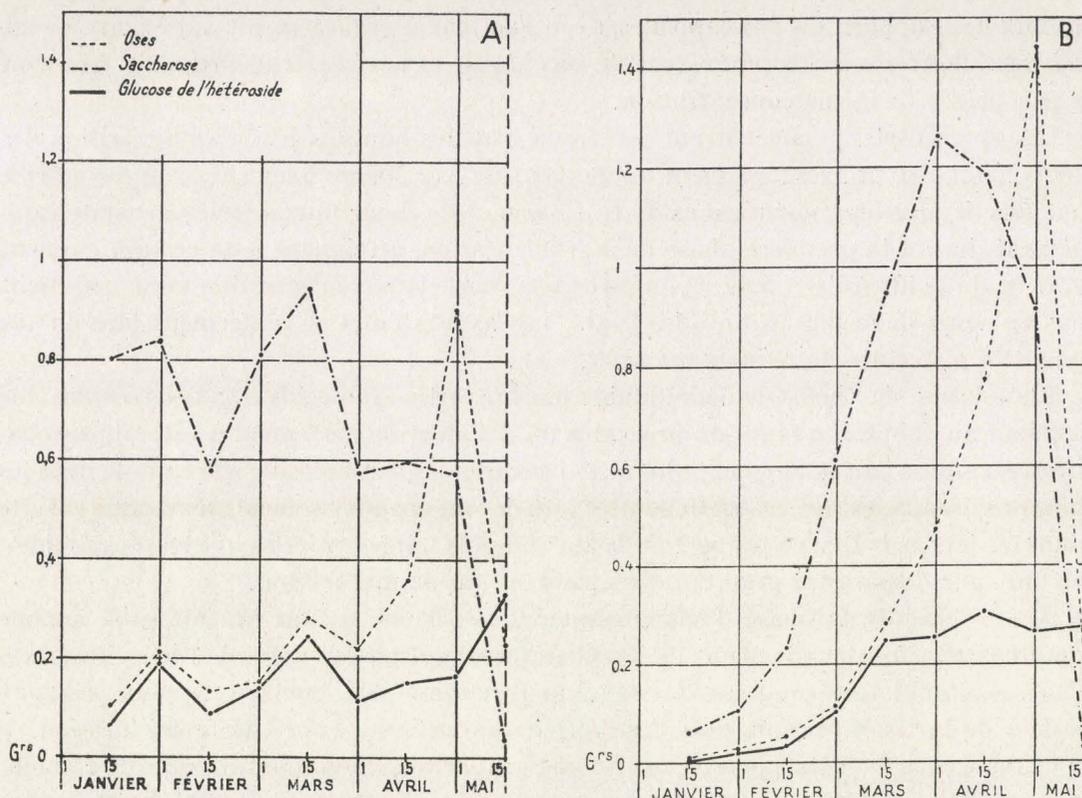


FIG. 8. — *Scabiosa prolifera* L. — ÉVOLUTION DES GLUCIDES DANS LES RACINES
(A. pour 100 grammes) (B. pour 100 parties)

TABLEAU 8.

Scabiosa prolifera L. — Évolution des glucides dans les racines.



DATE DES PRÉLÈ- VEMENTS	MA- TIÈRE SÈCHE pour 100 grs.	DÉVIATION OPTIQUE 1 = 2			OSES SIMPLES		SACCHAROSE		GLUCOSE DE L'HÉTÉ- ROSIDE		TOTAL DES GLUCIDES		INDICES	
		α_1	α_2	α_3	pour 100 grs.	pour 100 rac.	pour 100 grs.	pour 100 rac.	pour 100 grs.	pour 100 rac.	pour 100 grs.	pour 100 rac.	In- ver- tine	Émul- sine
15 janv....		+ 25'	— 55'	— 20'	0,103	0,007	0,800	0,056	0,063	0,004	0,966	0,067	600	190
1 ^{er} févr....		+ 30'	— 50'	0	0,212	0,026	0,838	0,104	0,189	0,023	1,239	0,153	624	226
15 févr. ...		+ 18'	— 35'	— 10'	0,132	0,052	0,574	0,229	0,090	0,036	0,796	0,317	648	216
1 ^{er} mars ...		+ 30'	— 50'	— 11'	0,151	0,113	0,811	0,608	0,138	0,103	1,100	0,824	648	211
15 mars. ...		+ 25'	— 1°10'	0	0,281	0,281	0,944	0,944	0,245	0,245	1,470	1,470	595	210
1 ^{er} avril...		+ 32'	— 24'	+ 10'	0,215	0,473	0,572	1,258	0,115	0,253	0,902	1,984	612	202
15 avril ...		+ 35'	— 22'	+ 20'	0,355	0,770	0,593	1,180	0,152	0,304	1,100	2,254	618	216
1 ^{er} mai ...	33,40	+ 22'	— 33'	+ 15'	0,900	1,440	0,570	0,912	0,165	0,264	1,635	2,616	630	210
15 mai. ...	53,00	+ 15'	— 15'	+ 1°18'	0,225	0,189	0,037	0,031	0,328	0,275	0,590	0,495	720	210

floraux dès l'apparition des capitules, avec une teneur en hétéroside supérieure à celle des tiges florifères qu'ils prolongent, le saccharose et le réducteur initial s'y trouvant à peu près à la même concentration.

Les oses simples se concentrent peu à peu dans les boutons jusqu'à l'apparition des fleurs, pour être utilisés largement au moment de leur épanouissement, ce qui confirme une fois de plus les constatations de R. COMBES (31). Leur taux se relève ensuite rapidement durant la première phase de la fructification, atteignant à un certain moment 2,37 % du poids frais et 5,87 % du poids sec. Mais cette concentration ne se maintient pas au cours de la maturation des fruits. Les akènes mûrs ne renferment plus qu'une quantité restreinte de réducteur initial.

L'évolution de l'holoside dédoublable par l'invertine (holoside d'indice très variable ici, sauf au début et à la fin du processus où il s'identifie nettement à celui du saccharose) est tout à fait analogue. Comme les oses simples, cet holoside s'accumule dans les boutons floraux, est utilisé partiellement lors de leur épanouissement, se reforme ensuite dans les jeunes fruits, en proportion beaucoup plus faible toutefois que les oses simples, et finit par disparaître presque totalement en fin de maturation.

Si l'on excepte la phase d'épanouissement des fleurs, qui ne lui fait subir aucune modification, le comportement de l'hétéroside est calqué sur celui de l'holoside précédent. Accumulation progressive depuis la formation des boutons floraux jusqu'au milieu de la fructification, puis diminution graduelle au cours de la maturation. Il n'en reste plus dans les akènes mûrs qu'une proportion insignifiante (moins de 75 milligrammes pour 1.000 graines) à peine supérieure à celle de l'holoside tributaire de l'invertine.

Discussion des résultats.

En comparant les résultats fournis par l'évolution des glucides au cours de la maturation des akènes, une différence essentielle apparaît donc entre la Céphalaire de Syrie et la Scabieuse prolifère. Dans la première de ces espèces, il se constitue dans les graines, parallèlement à la réserve principale formée de lipides, une réserve glucidique notable comprenant surtout du saccharose, et l'hétéroside s'y accumule simultanément pour être utilisé comme il a été vu au cours de la germination. Dans la Scabieuse prolifère, au contraire, le contingent glucidique soluble, assez abondant au début de la fructification, disparaît graduellement pendant la phase de maturation, ne laissant aux graines mûres qu'une proportion insignifiante de glucides utilisables. La seule réserve abondante dont elles disposent est la réserve lipidique qui atteint près de 15 % de leur poids.

Mais que deviennent alors les glucides solubles durant la maturation des akènes ? La graine mûre ne renfermant ni amidon, ni fructosane, ni polyholoside hydrolysable par l'acide chlorhydrique à 2 %, comme j'ai pu m'en assurer, c'est du côté des glucides de membrane qu'a été recherché le produit possible de leur condensation.

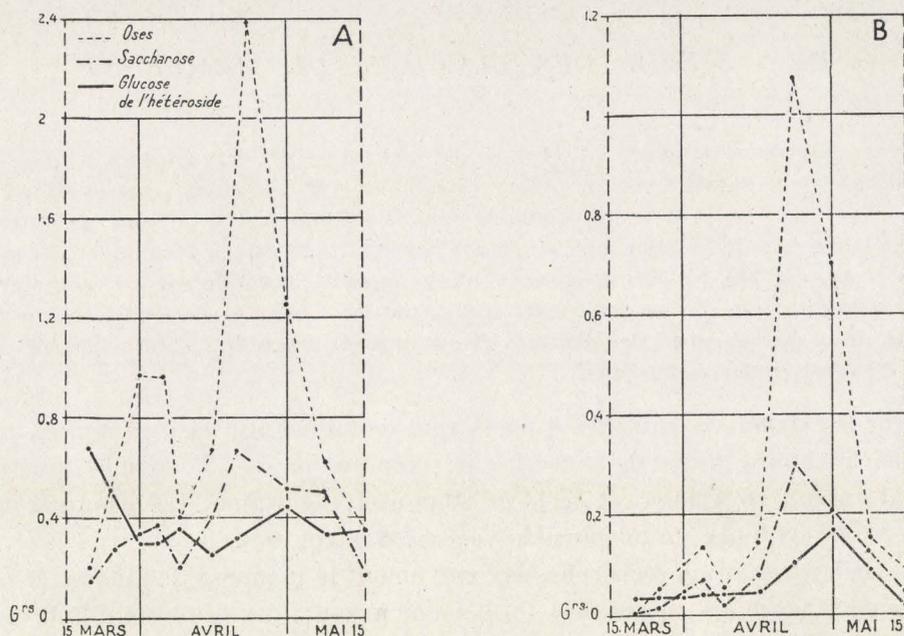


FIG. 9. — *Scabiosa prolifera* L. — ÉVOLUTION DES GLUCIDES AU COURS DE LA FLORAISON ET DE LA FRUCTIFICATION
(A. pour 100 grammes) (B. pour 1.000 organes)

TABLEAU 9.

Scabiosa prolifera L. — Évolution des glucides dans les organes reproducteurs.



DATE DES PRÉLÈ- VEMENTS	MA- TIÈRE SÈCHE pour 100 gr.	DÉVIATION OPTIQUE			OSES SIMPLES		OSIDE		GLUCOSE DE L'HÉTÉ- ROSIDE		TOTAL DES GLUCIDES		INDICES	
		α_1	α_2	α_3	pour 100 gr.	pour 1.000 org.	pour 100 gr.	pour 1.000 org.	pour 100 gr.	pour 1.000 org.	pour 100 gr.	pour 1.000 org.	In- ver- tine	Émul- sine
20 mars, boutons ..		— 1°40'	— 1°55'	+ 53'	0,203	0,0081	0,154	0,006	0,674	0,019	1,031	0,033	610	240
25 mars, boutons ..		— 3°06'	— 3°36'	— 1°36'	0,666	0,053	0,269	0,021	0,495	0,036	1,430	0,110	540	245
1 ^{er} avril, boutons ..		— 2°40'	— 2°55'	— 1°28'	0,980	0,117	0,312	0,037	0,312	0,037	1,604	0,191	1266	214
4 avril, fl.	20,79	— 1°15'	— 2°34'	— 1°10'	0,975	0,120	0,390	0,048	0,315	0,039	1,680	0,207	1206	225
8 avril, fl. fécondées.	22,55	— 57'	— 1°28'	0	0,400	0,049	0,216	0,026	0,354	0,044	0,970	0,119	432	240
15 avr., j. fruits. . .	25,67	— 35'	— 1°24'	— 19'	0,675	0,135	0,401	0,080	0,247	0,049	1,323	0,264	491	228
22 avr., j. fruits. . .	40,32	— 30'	— 2°06'	0	2,370	1,066	0,675	0,303	0,630	0,283	3,675	1,652	421	300
1 ^{er} mai, fr. en matur.	67,46	— 20'	— 1°45'	— 42'	1,250	0,500	0,535	0,214	0,450	0,180	2,235	0,894	378	224
8 mai, fr. en matur.	73,52	— 35'	— 1°25'	0	0,625	0,156	0,512	0,128	0,317	0,079	1,454	0,363	612	222
15 mai, ak. mûrs . . .	78,82	— 50'	— 1°07'	+ 38'	0,376	0,075	0,174	0,034	0,367	0,073	0,917	0,182	612	210

III. — ÉTUDE DES GLUCIDES DE MEMBRANE

Technique.

Les akènes pulvérisés, délipidés à l'éther de pétrole, privés de leurs glucides solubles par lixiviation alcoolique et de leurs autres substances solubles par épuisements successifs à l'eau distillée et à l'eau acétique à 4‰, ont donc été soumis à l'action hydrolysante de SO^4H^2 à 3 % durant cinq heures à l'ébullition au réfrigérant à reflux, suivant la technique préconisée par H. COLIN et AUGEM (28). La liqueur obtenue, filtrée après décoloration par le charbon et neutralisation par le carbonate de baryum, a été traitée par les méthodes classiques en vue de la recherche et du dosage éventuel des pentoses et des hexoses rencontrés habituellement parmi les produits d'hydrolyse des membranes.

La liqueur extractive, ramenée à poids égal de substance mise en œuvre, présente un pouvoir rotatoire global de $+ 9^{\circ}34'$ à la température de 15° , et le chiffre du réducteur total, calculé en xylose, est de 11 gr. 90 pour 100 grammes. Cette liqueur renferme donc de toute évidence un ou plusieurs sucres dextrogyres.

Parmi les hexoses, on a recherché successivement le mannose, le glucose et le galactose. Ces deux premiers sucres sont totalement absents des produits d'hydrolyse. En effet, l'addition au liquide déféqué d'acétate de phénylhydrazine à froid ne provoque la formation d'aucun précipité cristallin de mannose-hydrazone, même après agitation prolongée, pas plus que l'oxydation nitrique opérée à chaud ne conduit à l'obtention de saccharate acide de potassium après neutralisation par le carbonate de potassium en milieu acétique.

Par contre, cette même oxydation nitrique fournit de l'acide mucique nettement cristallisé, ce qui permet de mettre en évidence le galactose, dont la présence a pu être confirmée par la formation de galactosazone cristallisée, le point de fusion instantané de cette osazone purifiée par recristallisation ayant été de $+ 191^{\circ}$, très voisin de celui de la galactosazone pure, qui est de $+ 193^{\circ}$, d'après G. BERTRAND (6). Un dosage du galactose suivant la méthode de VAN DER HAAR H. W. (85) a donné la proportion de 1 gr. 86 de galactose pour 100 grammes d'akènes.

La réaction de BIAL à l'orcinol chlorhydrique et celle d'OSHIMA TOLLENS au β naphthol, en vue de la recherche des pentoses, ayant été toutes deux fortement positives, on a procédé à leur identification par la production des osazones spécifiques. Par action de l'acétate de phénylhydrazine en présence d'acétate de sodium, au bain-marie bouillant, il s'est formé après refroidissement de la liqueur un précipité cristallin, qui, vu au microscope, a présenté à la fois la forme caractéristique en filaments rigides de la xylosazone et celle en houppes chevelues de l'arabinosazone, accompagnées d'un peu de galactosazone. Cette dernière ayant été éliminée par lavage à l'alcool méthylique froid, le mélange des deux précédentes, purifié par recristallisation dans l'eau, fond au bloc Maquenne à $+ 152^{\circ}$. Ce point de fusion est intermédiaire entre celui de l'arabinosazone pure, qui est de $+ 143^{\circ}$ d'après G. BERTRAND (6) et celui de la xylosazone pure, qui est de $+ 166^{\circ}$ d'après le même auteur. Il s'agissait donc bien

d'un mélange de xylose et d'arabinose. La présence de xylose a d'ailleurs pu être confirmée par l'obtention du xylonobromure de cadmium cristallisé après oxydation bromique et saturation par le carbonate de cadmium, et celle de l'arabinose par la précipitation à l'aide de la parabromophénylhydrazine.

Restait à déterminer la proportion respective de chacun de ces sucres. On sait combien il est difficile de séparer ces deux isomères (MAQUENNE (62)), et comme il n'existe pas de méthode permettant de les doser séparément, j'ai procédé comme on le fait habituellement à un dosage de l'ensemble des pentoses par la méthode classique qui consiste à transformer ces sucres en furfural à l'aide d'acide chlorhydrique au 1/3 à l'ébullition, à distiller le furfural libéré, à précipiter ce dernier par le phloroglucinol et à peser le phloroglucide-furfural après dessiccation, suivant la technique de KRÜGER et TOLLENS (59).

En prenant un coefficient moyen pour le calcul des sucres générateurs de furfural, j'ai obtenu un chiffre d'environ 9 gr. 90 de pentoses pour 100 grammes de graines. A l'aide du pouvoir rotatoire global de la liqueur d'hydrolyse et de la somme du réducteur évaluée en xylose par la méthode de G. BERTRAND, connaissant d'autre part les pouvoirs rotatoires respectifs de chacun des trois sucres présents dans le mélange, j'ai pu par le calcul estimer la proportion d'arabinose à environ 1 gr. 68 pour 100 grammes de graines et celle de xylose à 8 gr. 22. La recherche des substances polyuroniques par la réaction au naphthorésorcinol (67) a donné un résultat négatif.

Les akènes de Scabieuse prolifère renferment donc dans leurs membranes¹, en dehors de la cellulose et de produits lignifiés, une importante proportion de polyholosides dérivant à la fois des pentoses et des hexoses. Comme cela se rencontre assez fréquemment dans les téguments des graines (MAQUENNE (62)), le produit de condensation du xylose se trouve ici apparemment combiné avec celui du galactose sous forme de xylogalactoholoside. Ce complexe a pu en effet être identifié après extraction à la soude diluée à 4 %, par ses différentes propriétés physico-chimiques et notamment par la coloration bleue qu'il prend sous l'action de l'iode, ce qui lui a fait donner le nom d'amyloïde végétal. Le xylogalactoholoside est accompagné d'une petite quantité d'arabinoholoside. On a déjà signalé d'ailleurs l'association de ces trois glucides de membrane, du groupe des pseudo-celluloses (5), dans les téguments d'un certain nombre de graines (R. COMBES (30)).

Ces produits de condensation proviennent-ils d'une transformation directe des glucides solubles dont on a constaté la disparition au cours de la maturation des fruits ?

1. Il a été vérifié que seuls les téguments des graines et le péricarpe des akènes livrent à l'hydrolyse sulfurique des sucres de membrane. Ayant isolé sur un lot d'akènes de Scabieuse prolifère, d'une part les enveloppes, d'autre part les amandes, on a soumis séparément ces organes à l'action hydrolysante de SO^4H^2 à 3 %. Les téguments isolés ont fourni à peu de choses près les mêmes résultats que les akènes entiers. Par contre, les amandes délipidées n'ont livré qu'environ 0 gr. 375 % de galactose, sans trace de xylose ni d'arabinose. C'est donc bien dans les enveloppes que se fait l'accumulation de ces glucides de membrane et on ne saurait évidemment considérer ces derniers comme des glucides de réserve de la graine de Scabieuse prolifère.

Dans l'ignorance où l'on est encore au sujet de l'origine des pentoses et de l'isomérisation des hexoses chez les végétaux, il serait prématuré de l'affirmer, mais on ne peut s'empêcher de souligner le parallélisme existant entre l'apparition des pentohexosanes et la diminution concomitante du réducteur, du saccharose et de l'hétéroside dans les akènes en voie de maturation. Ce parallélisme se retrouvera-t-il chez d'autres Dipsacées apparentées à la Scabieuse prolifère, c'est ce qui sera examiné plus loin (p. 59).

Il eût été intéressant de suivre l'évolution des réserves au cours de la germination des graines de Scabieuse prolifère, pour compléter la comparaison avec la Céphalaire de Syrie. Mais comme l'objectif principal de ce travail était concentré avant tout sur la destinée de l'hétéroside, l'absence quasi totale de ce produit dans les akènes mûrs de Scabieuse rendait cette étude moins directement utile à mes recherches et c'est pourquoi, faute de temps, elle a dû être abandonnée.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

La comparaison entre l'étude biochimique des glucides de la Scabieuse prolifère et celle de la Céphalaire de Syrie fait ressortir de nombreuses ressemblances entre ces deux espèces, mais aussi quelques différences frappantes, en ce qui concerne la répartition des glucides et leur évolution au cours du cycle annuel.

1° *Les glucides solubles rencontrés dans la Scabieuse prolifère sont de même nature que ceux de la Céphalaire de Syrie : oses simples, saccharose et un hétéroside lévogyre d'indice analogue hydrolysable par l'émulsine.* A aucun moment, il n'existe dans les différents organes de cette espèce d'amidon, d'inuline ou d'autre polyholoside facilement hydrolysable par HCl à 2 %.

2° *L'évolution des oses simples est, elle aussi, comparable à celle qui a été observée dans la Céphalaire de Syrie.* Formés en proportion prédominante dans les feuilles, les oses simples se retrouvent en quantité variable dans les différents organes suivant les périodes du cycle végétatif et les vicissitudes subies par le saccharose. Ils sont particulièrement abondants dans les capitules avant l'épanouissement des fleurs et au cours de la première phase de la fructification, après quoi ils disparaissent presque complètement des akènes mûrs.

3° *Contrairement à ce qui a été constaté dans la Céphalaire de Syrie, le saccharose n'a plus ici qu'une importance limitée dans la constitution de la réserve glucidique.* Très peu abondant dans les feuilles, il se condense partiellement à son passage dans les souches ou les tiges florifères pour s'accumuler dans les racines jusqu'au début de la fructification. Ce n'est qu'à ce moment que s'amorce dans ces organes son hydrolyse en sucre interverti, mais sa concentration dans les tiges florifères et les capitules en formation reste toujours importante, proportionnellement à celle des oses simples. Il est partiellement utilisé par les fleurs au cours de leur épanouissement, se reforme ensuite

passagèrement dans les jeunes fruits, mais ne tarde pas à diminuer puis à disparaître à l'égal du réducteur durant la maturation des akènes.

4° Quant à l'hétéroside, s'il se révèle présent dans tous les organes, on ne l'y rencontre qu'en faible quantité, et son comportement au cours de la fructification y est assez différent de celui de la Céphalaire. Formé ici encore dans les feuilles proportionnellement à la quantité de réducteur présent, il émigre tout d'abord vers les organes souterrains pour y demeurer inchangé jusqu'à la fin de la végétation, puis vers les organes reproducteurs où il s'accumule de manière transitoire au début de la fructification, disparaissant ensuite presque totalement comme les autres glucides solubles en fin de maturation.

5° Sauf en ce qui concerne son évolution dans la racine, l'hétéroside de Scabieuse prolière suit presque en tout point les variations du saccharose et cette similitude de comportement est particulièrement frappante durant la fructification. S'il disparaît comme ce dernier au cours de la maturation des akènes, il ne peut y avoir là une simple coïncidence. N'est-il pas légitime de supposer que, par sa fraction glucidique tout au moins, il participe aux processus de maturation, au même titre que les autres glucides ? Ce qui semble certain en tout cas, c'est qu'il ne se comporte pas comme un déchet de l'assimilation, puisqu'on ne le retrouve même pas dans les téguments.

CHAPITRE III

LES GLUCIDES DE QUELQUES AUTRES DIPSACÉES DU PROCHE-ORIENT

Sur les neuf genres généralement acceptés de la famille des Dipsacées, six sont représentés dans la flore du Proche-Orient, trois d'entre eux assez largement (*Cephalaria* SCHRAD., *Pterocephalus* VAIL., *Scabiosa* L.), trois autres par une ou deux espèces seulement (g. *Dipsacus* TOURN., *Knautia* COULT. et *Morina* L.).

Parmi les vingt-cinq espèces de ce groupe reconnues jusqu'à présent dans les limites du territoire du Liban et de la Syrie, six ont été spécialement choisies pour être soumises à un essai biochimique par comparaison avec la Céphalaire de Syrie et la Scabieuse prolifère, à savoir :

Cephalaria joppica SPRENG.
Cephalaria dipsacoides BOISS. et BAL.
Dipsacus laciniatus L.
Pterocephalus plumosus L. (COULT.).
Scabiosa paloestina L.
Morina persica L.

Seul le genre *Knautia* n'a pas pu être examiné du fait de la rareté de son espèce indigène, le *Knautia hybrida* ALL. (COULT.).

Pour les raisons exposées précédemment, on s'est borné à un examen sommaire du matériel glucidique présent dans la plante au moment le plus favorable, c'est-à-dire durant la période de floraison, et à une étude de sa répartition dans les différents organes.

LES GLUCIDES DE *CEPHALARIA JOPPICA* SPRENG.

Cephalaria joppica SPRENG. est une belle et grande plante annuelle qui peut atteindre 1 m. 50 de hauteur au moment de la floraison. Elle se reconnaît aisément à ses feuilles opposées pennatiséquées et surtout à ses tiges florifères longues et flexibles, ramifiées en cymes bipares et terminées par de petits capitules de fleurs lilacées qui apparaissent tardivement et ne s'épanouissent qu'en juillet. La fructification n'est terminée qu'en août.

Signalée en Sicile et en Calabre, la Céphalaire de Jaffa est très répandue sur tout le littoral de la Méditerranée orientale, de Cilicie jusqu'en Palestine, dans les terrains incultes.

Un essai biochimique a été pratiqué en juin 1947 sur quelques individus fleuris précocement et en novembre sur les akènes recueillis au cours de l'été.

Voici les résultats obtenus avec les différents organes :

TABLEAU 10.

	RACINES	TIGES	FEUILLES	CAPITULES	AKÈNES
Déviati on initiale.	+ 1°10'	— 50'	— 6°50'	— 8°20'	— 25°57'
Déviati on après invertine	— 1°18'	— 2°11'	— 7°42'	— 8°45'	— 30°37'
Déviati on après émulsine.	+ 42'	+ 10'	— 1°24'	— 2°48'	+ 1°18'
Déviati on après HCl 2 %	— 1°20'	— 2°14'	— 7°46'	— 8°45'	— 30°37'
Réducteur initial.	0,350	0,375	1,205	0,870	0,656
Réducteur invertine	1,827	1,281	1,722	1,906	2,949
Réducteur émulsine.	2,257	1,785	3,202	3,213	10,762
Réducteur après HCl 2 %	1,830	1,285	1,726	1,906	2,950
Par invertine recul.	2°28'	1°21'	52'	25'	4°40'
Par invertine sucre formé	1,477	0,906	0,517	1,036	2,293
Indice.	598	666	596	2,484	625
Par émulsine retour	2°	2°21'	6°18'	5°15'	31°55'
Par émulsine sucre formé	0,430	0,504	1,480	1,307	7,813
Indice.	224	214	234	219	210
Amidon	0	0	0	0	0
Tanin	traces	0	0	0	0
Acide chlorogénique.	+ dans le paren- chyme cortical	+ id.	+ dans le limbe	0	0

Interprétation des résultats :

Le réducteur initial est spécialement abondant dans les feuilles et les capitules en voie d'épanouissement. Les akènes mûrs en renferment une proportion analogue à celle de la Céphalaire de Syrie.

L'holoside dédoublable par l'invertine, présent dans les organes végétatifs, possède un indice voisin de 600. Il s'agit vraisemblablement du saccharose, bien qu'il n'ait pas été isolé. Cet oside, formé dans les feuilles, est déjà plus concentré dans les tiges et atteint dans les racines une concentration quadruple de celle des oses simples. On retrouve également ce sucre dans les akènes mûrs, où il constitue une part non négligeable de la réserve glucidique. Les capitules fleuris semblent renfermer un holoside spécial d'indice très élevé (2484).



Dans toutes les liqueurs extractives, l'émulsine provoque un retour vers la droite de la déviation optique et fait apparaître une plus ou moins forte proportion de réducteur secondaire. Tous les organes de la Céphalaire de Jaffa renferment donc un hétéroside lévogyre hydrolysable par l'émulsine. Son indice de réduction enzymolytique (210 à 234) est très voisin de celui de la Céphalaire de Syrie. Sans doute s'agit-il du même hétéroside ou d'un hétéroside analogue ? Formé lui aussi dans les feuilles, il s'accumule en quantité considérable dans les akènes mûrs, au point de représenter environ 15 % du poids frais et plus de 17 % de la matière sèche.

Le contingent glucidique de *C. joppica* se limite à ces trois éléments. L'hydrolyse par HCl à 2 % durant 10 minutes ne fait pratiquement pas varier les chiffres observés après action de l'invertine, ce qui exclut la présence de tout fructoholoside dans les liquides d'extraction alcoolique. J'ai pu m'assurer également par l'action de l'iode qu'aucune partie de la plante ne renferme d'amidon. Du point de vue qui nous occupe, cette espèce ne diffère donc de la Céphalaire de Syrie que par la proportion différente de ses glucides dans les organes végétatifs et reproducteurs.

Un essai au chlorure ferrique sur les coupes de racines, de tiges, de feuilles, de capitules et d'akènes a été négatif. La Céphalaire de Jaffa ne renferme pas de tanin.

Par contre, l'ammoniaque diluée au 1/5 fait apparaître dans le parenchyme chlorophyllien de la feuille, dans le parenchyme cortical, l'endoderme et le liber de la tige et de la racine, la coloration verte qui caractérise la présence de l'acide chlorogénique.

LES GLUCIDES DE *CEPHALARIA DIPSACOIDES* BOISS. ET BAL. VAR. *LIBANOTICA* BOISS.

Contrairement aux deux espèces déjà examinées du genre *Cephalaria*, la Céphalaire dipsacoïde est une plante vivace, à grosse racine charnue, qui développe chaque année de grandes feuilles opposées ressemblant à celles de la Cardère et une forte tige florifère à ramifications dichotomiques, fournissant au début de l'été d'assez volumineux capitules de fleurs jaunes. La fructification ne s'achève qu'en août-septembre pour donner des akènes semblables à ceux de *Cephalaria alpina* L. avec laquelle cette plante a d'incontestables affinités. Comme la Céphalaire alpine, la Céphalaire dipsacoïde ne croît qu'en altitude vers 1.200 à 1.500 mètres dans les massifs calcaires du Liban où elle est assez strictement localisée en des gîtes d'accès difficile.

Les échantillons analysés ont été récoltés au début de la floraison, le 5 juin 1947, à proximité de la route de Beyrouth à Damas, près du tunnel de Mderej où se trouve un bon gîte de cette espèce. Les akènes ont été recueillis en août de la même année. Les essais biochimiques ont été conduits comme précédemment à partir d'organes stabilisés et soumis à l'extraction alcoolique.

Interprétation des résultats :

Un intérêt spécial s'attachait à l'étude de la Céphalaire dipsacoïde en raison de la nature pérennante de ses racines gorgées de réserves, où l'on pouvait supposer la présence, soit d'amidon, soit d'inuline ou d'un fructoholoside analogue, comme en con-

tiennent les organes souterrains des plantes appartenant aux familles voisines des Dipsacées, Composées et Campanulacées notamment.

TABLEAU 11.

	RACINES	TIGES	FEUILLES	CAPITULES	AKÈNES MÛRS
Matière sèche %.....	25,97	26,24	28,44	28,71	88
Déviati on initiale.....	+ 4°10'	— 1°06'	— 1°52'	— 4°10'	— 16°40'
Déviati on invertine.....	— 2°06'	— 2°16'	— 2°26'	— 4°48'	— 19°32'
Déviati on émulsine.....	— 21'	— 42'	— 58'	— 52'	+ 1°25'
Déviati on après HCl 2 %.....	— 2°02'	— 2°14'	— 2°26'	— 4°44'	— 19°30'
Réducteur initial.....	1,150	1,450	0,725	0,937	1,250
Réducteur invertine.....	4,961	2,178	1,076	1,402	3,075
Réducteur émulsine.....	5,271	2,646	1,470	2,231	7,400
Réducteur après HCl 2 %.....	4,980	2,190	1,078	1,442	3,080
Par invertine recul.....	6°16'	56'	34'	38'	2°52'
Sucre formé.....	3,811	0,728	0,351	0,465	1,825
Indice.....	606	624	618	732	636
Par émulsine retour.....	1°45'	1°34'	1°28'	3°56'	20°57'
Sucre formé.....	0,310	0,468	0,415	0,829	4,325
Indice.....	177	298	280	210	206
Amidon et tanin.....	0	0	0	0	0
Acide chlorogénique.....	+ dans l'écorce	+ dans l'écorce	+ dans le limbe	0	+ dans le péricarpe

Or, non seulement le pouvoir rotatoire initial des liqueurs extractives obtenues à partir des racines est fortement positif, mais l'hydrolyse chlorhydrique après action de la sucrase ne produit aucune déviation complémentaire appréciable et ne fait apparaître que des traces de réducteur. D'autre part, la solution iodo-iodurée ne donne aucune coloration bleue sur la coupe de racine fraîche. La racine de Céphalaire dipsacœide ne contient donc ni amidon, ni fructoholoside.

Quelle est donc dans cette espèce la nature de la réserve glucidique ? Le simple examen des chiffres de la déviation optique avant et après action de la sucrase, et le calcul de l'indice de réduction correspondant, démontrent qu'ici encore c'est le saccharose qui paraît en être le constituant principal. Sa proportion dans les racines atteint 3,80 % du poids frais et près de 15 % de la matière sèche. Dans les autres parties de la plante, sa concentration ne dépasse pas les chiffres habituels, mais les akènes mûrs en renferment une quantité assez importante pour qu'on puisse lui attribuer un rôle de réserve. Le saccharose est accompagné d'une certaine proportion d'oses simples dont le taux n'est un peu élevé que dans la tige, ce qui est normal pour un organe de conduction.



Enfin, on retrouve dans tous les organes un hétéroside lévogyre d'indice voisin de 210, analogue à celui qui a été rencontré dans les deux espèces du g. *Cephalaria* déjà examinées. Si l'indice de réduction enzymolytique, après émulsine, des extraits de feuilles et de tiges, dépasse assez sensiblement ce chiffre, c'est sans doute que les tissus foliaires élaborent en même temps un autre hétéroside d'indice plus élevé que je n'ai pas cherché à identifier. L'hétéroside principal est en faible quantité dans les organes végétatifs, mais il se concentre dans les capitules et surtout dans les akènes mûrs qui en contiennent plus de 8 % de leur poids.

La Céphalaire dipsacoïde renferme donc les mêmes constituants glucidiques que les espèces précédentes, en dépit de la pérennité de ses organes souterrains. Comme ces dernières, également, elle est privée de tanin, mais on peut aisément y déceler une substance présentant les réactions de l'acide chlorogénique par action de l'ammoniaque diluée, avec la même localisation corticale dans la racine et la tige, ainsi que dans la feuille.

LES GLUCIDES DE *DIPSACUS LACINIATUS* L.

Considérée par certains botanistes (entre autres BONNIER) comme une simple race de *Dipsacus sylvestris* L., *Dipsacus laciniatus* L. est au contraire tenue comme bonne espèce par d'autres (ENGLER (38), COSTES (32), JAEGER (54)). Quoi qu'il en soit, cette belle et forte plante bisannuelle ressemble beaucoup à la Cardère par son port, la disposition de ses feuilles et ses gros capitules aiguillonnés fleurissant au cours de l'été. Elle ne diffère du *D. sylvestris* L. que par ses feuilles assez profondément laciniées, ses capitules cylindroïdes et non ovoïdes, ses fleurs blanc rosé et quelques autres caractères morphologiques secondaires. Comme le Cabaret des Oiseaux, *D. laciniatus* L. se plaît dans les fossés et les terrains argileux humides sous le couvert de la végétation arborescente. En Orient, on la rencontre surtout dans les plaines marécageuses de Syrie et du Liban, notamment aux environs de Damas et dans la Bekaa.

C'est de cette dernière région que proviennent les échantillons qui ont été soumis aux essais biochimiques. Ils ont été récoltés sur des plantes de seconde année, au début de la floraison, en juin 1947, à Tanaïl, où se trouve un très beau peuplement de cette espèce sous le couvert des Peupliers. Les akènes analysés ont été recueillis en août de la même année¹. Les opérations de stabilisation et d'extraction ont été effectuées suivant la méthode déjà citée.

Interprétation des résultats :

Comme la Céphalaire dipsacoïde, *D. laciniatus* L. est une espèce à racine persistante, riche en réserves, dont l'étude est également fort instructive pour la biochimie comparée des Dipsacées annuelles et des Dipsacées à organes végétatifs pérennants.

Avec *D. laciniatus* L., on observe pour la première fois dans cette étude un extrait de racines à déviation initiale négative. Cette différence dans le sens de la déviation

1. Par M. l'abbé DE TARADE, que je remercie de sa grande obligeance pour cette récolte.

optique est simplement due à la proportion importante de l'hétéroside lévogyre présent dans les organes souterrains, et non à l'existence d'un fructosane comme on pourrait le croire au premier abord. En effet, ni le pouvoir rotatoire, ni le chiffre du réducteur ne varient sensiblement après action de HCl à 2 % sur les liqueurs déjà traitées par l'invertine. Et il en est de même pour les autres organes. Pas plus que la Céphalaire dipsacoïde, *D. laciniatus* ne renferme donc de fructoholoside dans ses organes de réserve. L'absence d'amidon a également été vérifiée sur les coupes fraîches.

Dans cette espèce, comme le fait ressortir le tableau suivant, c'est toujours le saccharose qui reste l'élément principal de la réserve glucidique, tout au moins dans les racines où il représente la moitié des glucides totaux au moment de la floraison, et plus de 60 % l'année précédente. Présent partout ailleurs en plus ou moins grande quantité suivant l'organe ou le moment de la végétation, il tend à s'accumuler dans les capitules, mais sa proportion dans les akènes mûrs est moindre que dans les Céphalaires.

Les oses simples abondent particulièrement dans les tiges et les capitules en floraison.

TABLEAU 12.

	RACINES de 1 ^e ANNÉE	RACINES de 2 ^e ANNÉE	TIGES de 1 ^e ANNÉE	TIGES de 2 ^e ANNÉE	FEUILLES de 1 ^e ANNÉE	FEUILLES de 2 ^e ANNÉE	CAPITULES FLEURIS	AKÈNES MÛRS
Déviat. initiale ..	— 3°10'	— 3°20'	— 3°20'	— 2°38'	— 4°20'	— 3°	— 5°20'	— 12°55'
Dév. invertine	— 6°40'	— 6°18'	— 4°	— 3°	— 5°	— 3°30'	— 7°	— 14°26'
Dév. émulsine	— 2°23'	— 2°48'	— 1°24'	— 1°24'	— 1°37'	— 1°06'	— 2°24'	0
Dév. après HCl 2 %.	— 6°30'	— 6°20'	— 3°55'	— 3°	— 4°56'	— 3°25'	— 7°	— 14°20'
Réducteur initial R ₁	0,425	0,812	1,910	1,175	0,383	0,525	1,775	0,234
Réd. invertine R ₂ ..	2,490	2,646	2,370	1,417	0,750	0,815	2,919	1,214
Réd. émulsine R ₃ ..	3,520	3,486	3,025	2,362	1,850	1,690	5,865	4,305
Réd. apr. HCl 2 %.	2,550	2,650	2,400	1,420	0,760	0,830	2,925	1,220
Par invertine recul .	3°30'	2°58'	40'	22'	40'	30'	1°40'	1°31'
Sucre formé.	2,065	1,834	0,460	0,242	0,367	0,290	1,144	0,980
Indice.	589	618	690	660	550	590	684	642
Par émulsine retour.	4°17'	3°30'	2°36'	1°36'	3°23'	2°27'	4°36'	14°26'
Sucre formé.	1,030	0,840	0,655	0,945	1,100	0,865	0,966	3,091
Indice.	240	240	252	306	324	352	210	214
Amidon	0	0	0	0	0	0	0	0
Tanin.....	traces	traces	traces	traces	0	0	0	0
Acide chlorogénique	+	+	+	+	+	+	traces	traces

Quant à l'hétéroside, dont on a souligné plus haut l'existence en quantité appréciable dans les racines, il est présent dans tous les organes, mais surtout dans les akènes mûrs, où, comme précédemment, il forme la majeure partie des glucides solubles. Ses

affinités avec l'hétéroside de Céphalaire de Syrie paraissent ressortir de l'examen de son indice de réduction, voisin de 210 dans les capitules et les akènes. Cet indice atteint toutefois 306 dans les tiges et 382 dans les feuilles. Pareille anomalie a déjà été signalée dans la plupart des espèces précédentes. Rappelons que WATTIEZ assure justement avoir isolé des feuilles du *Dipsacus arvensis* L. du méthyl-glucoside β sur cette indication d'un indice de 343 après émulsine (89). N'ayant pas eu la possibilité de tenter l'extraction de ce glucoside à partir de feuilles de *D. laciniatus*, il ne m'est permis ni d'affirmer, ni de nier sa présence dans cette dernière espèce.

Quoi qu'il en soit, cette particularité, jointe à l'ensemble de ses caractères biochimiques, rapproche singulièrement le *D. laciniatus* de la Céphalaire dipsacoïde. Elle ne leur confère toutefois pas place à part parmi les Dipsacées. Ni par la nature de leurs constituants glucidiques, ni par la répartition de ces constituants, ces deux espèces à organes souterrains persistants ne se distinguent essentiellement des Dipsacées annuelles qui ont été examinées jusqu'à présent.

LES GLUCIDES DE *PTEROCEPHALUS PLUMOSUS* L. (COULT.).

Le genre *Pterocephalus* COULT. fait partie du groupe de Dipsacées à fleurs tétramères, à style simple et à involucre sans collerette, à côté du genre *Cephalaria* avec lequel il a beaucoup d'affinités morphologiques.

Parmi les quelques espèces de *Pterocephalus* représentées dans la flore du Proche-Orient, la plus commune et la seule vraiment accessible est le *Pterocephalus plumosus* COULT., répandue depuis le littoral jusqu'aux confins de la Mésopotamie.

Cette plante annuelle, qui atteint environ 0 m. 30 de hauteur, présente des feuilles crénelées ou pennatifides assez étroites et une tige florifère très grêle, poisseuse, portant vers mai-juin de petits capitules de fleurs rose lilas. Ses akènes, pourvus d'arêtes plumeuses, sont aisément dispersés par le vent, dès leur maturité, ce qui en rend la récolte particulièrement difficile.

Les prélèvements ont été effectués sur des plantes en floraison et en fructification, en mai-juin 1947, çà et là dans les premières collines calcaires qui s'élèvent du littoral libanais, près de la localité d'Antélias.

Les échantillons ont été traités comme précédemment.

Interprétation des résultats :

Ce qui frappe tout d'abord à l'inspection de ce tableau, c'est la richesse en glucides totaux de cette espèce par comparaison avec les autres Dipsacées annuelles déjà analysées. Partout le taux de ces glucides atteint ou dépasse 3 % du poids frais.

C'est ensuite l'équilibre réalisé dans les organes végétatifs entre la proportion du réducteur préformé et celle du réducteur dû à l'invertine. Les oses simples prédominent dans les feuilles, puis leur concentration diminue dans la tige et s'abaisse encore dans

la racine, cependant que l'oside dédoublable par l'invertine (vraisemblablement le saccharose, d'après la valeur de son indice de réduction) augmente parallèlement des feuilles aux organes souterrains, attestant ainsi sa formation aux dépens du sucre interverti.

TABLEAU 13.

	RACINES	TIGES	FEUILLES	CAPITULES FLEURIS	AKÈNES EN FRUCTIF.
Matière sèche %.....	43,27	40,98	35,57	31,77	61,41
Déviati on initiale.....	— 1°46'	— 1°40'	— 10°	— 6°45'	— 4°38'
Déviati on invertine.....	— 3°56'	— 3°51'	— 11°12'	— 8°55'	— 6°33'
Déviati on émulsine.....	+ 45'	— 1°31'	— 2°45'	— 31'	+ 2°12'
Déviati on après HCl 2 %.....	— 3°58'	— 3°54'	— 11°16'	— 8°55'	— 6°33'
Réducteur initial R ₁	0,750	1,075	1,575	1,890	1,052
Réducteur invertine R ₂	2,147	2,415	2,362	2,992	2,163
Réducteur émulsine R ₃	3,218	2,919	4,242	5,197	3,937
Réducteur après HCl 2 %.....	2,150	2,420	2,364	2,992	2,164
Par invertine recul.....	2°10'	2°11'	1°12'	2°10'	1°55'
Sucre formé.....	1,397	1,340	0,787	1,102	1,101
Indice.....	642	612	654	508	570
Par émulsine.....	4°41'	2°20'	8°27'	8°24'	8°45'
Sucre formé.....	1,071	0,504	1,880	2,205	1,774
Indice.....	228	216	222	247	219
Amidon.....	0	0	0	0	0
Tanin.....	0	0	0	0	0
Acide chlorogénique.....	+	+	+	traces	traces



C'est en troisième lieu l'inégale répartition de l'hétéroside lévogyre décelé par l'action de l'émulsine, entre les organes végétatifs et les organes reproducteurs. Cet hétéroside se forme dans les feuilles en quantité considérable (au point que la déviati on initiale y atteint — 10°). On en retrouve un peu dans les tiges et les racines, mais la majeure partie se concentre dans les capitules et les akènes.

Le Ptérocéphale plumeux présente donc une composition glucidique comparable à celle de la Céphalaire de Syrie : oses simples, saccharose et hétéroside lévogyre y voisinent partout, ce dernier s'accumulant de la même façon dans les akènes mûrs où il forme près de la moitié du total des glucides solubles. Les quelques variations observées dans la répartition de ces glucides, notamment au niveau des feuilles, expriment sans doute leur individualité spécifique, mais n'empêchent pas de souligner les étroites affinités biochimiques existant entre ces deux espèces, affinités que l'on peut vraisemblablement étendre aux genres que ces espèces représentent.

LES GLUCIDES DE *SCABIOSA PALOESTINA* L.

Scabiosa paloestina L. est une espèce annuelle morphologiquement très voisine de *Scabiosa prolifera* L., dont elle diffère surtout par son aspect général plus grêle, ses feuilles plus étroites et divisées, ses tiges florifères dressées, ses fleurs bleu lilacé et ses akènes à couronne membraneuse plus large et plus étalée. De développement plus tardif que la précédente, elle n'arrive à floraison qu'au début de juin et sa fructification n'est achevée qu'aux premiers jours de juillet.

Répan due dans toute l'Asie Mineure, depuis le littoral méditerranéen jusqu'au plateau iranien et jusqu'aux montagnes d'Arménie, la Scabieuse de Palestine abonde dans les terrains calcaires des premiers contreforts du Liban, vers 200-300 mètres d'altitude.

C'est de la région de Jamhour, au voisinage de la route de Beyrouth à Damas, que proviennent les échantillons qui ont été récoltés en juin-juillet 1947 pour être soumis aux essais biochimiques. La variété analysée est la variété *microcephala* Boiss., la plus fréquente au voisinage de Beyrouth.

TABLEAU 14.

	RACINES	TIGES	FEUILLES	CAPITULES FLEURIS	AKÈNES MÛRS
Dévi ation initiale.	+ 42'	— 4'	— 3°20'	— 2°45'	— 2°05'
Dévi ation invertine.	— 1°18'	— 1°50'	— 3°47'	— 3°24'	— 2°40'
Dévi ation émulsine.	0	— 3'	— 2°02'	— 2°50'	— 52'
Dévi ation après HCl 2 %.	— 1°22'	— 1°54'	— 3°50'	— 3°24'	— 2°40'
Réducteur initial.	0,575	0,575	1,075	1,012	0,437
Réducteur invertine.	1,848	1,680	1,349	1,454	0,718
Réducteur émulsine.	2,100	1,890	1,743	1,574	1,020
Réducteur après HCl 2 %.	1,852	1,684	1,353	1,454	0,718
Par invertine recul.	2°	1°36'	27'	39'	35'
Sucre formé.	1,273	1,105	0,274	0,442	0,281
Indice.	636	624	606	679	562
Par émulsine retour.	1°18'	1°47'	1°45'	34'	48'
Sucre formé.	0,262	0,399	0,394	0,120	0,302
Indice.	201	222	225	211	208
Amidon.	0	0	0	0	0
Tanin.	0	0	0	0	0
Acide chlorogénique.	+	+	+	0	traces

Interprétation des résultats :

L'examen du tableau précédent révèle l'existence dans la Scabieuse de Palestine des mêmes constituants glucidiques que dans la Scabieuse prolifère, à savoir un

mélange d'oses simples, d'un holoside ayant l'indice du saccharose, aux écarts expérimentaux près, et d'un hétéroside lévogyre d'indice voisin de 210, sans qu'on puisse davantage y déceler d'amidon ou de fructosane hydrolysable par HCl à 2 %.

La répartition des oses simples dans les différents organes n'offre pas de grandes particularités. Le réducteur initial est plus abondant dans les feuilles que dans les autres organes végétatifs, à l'inverse du saccharose qui, formé en faible quantité dans les tissus assimilateurs, se concentre déjà dans la tige et prédomine nettement dans les racines. Les capitules fleuris sont surtout riches en sucre interverti, ce qui est normal au moment de la floraison. Quant aux akènes mûrs, ils contiennent très peu de l'un et de l'autre de ces sucres.

On constate également la faible teneur de tous les organes en hétéroside. Ce sont les feuilles et les tiges qui en contiennent le plus. La concentration de cette substance va en décroissant de la tige à la racine, et surtout de la tige aux capitules fleuris, puis aux akènes, si l'on tient compte de la faible hydratation de ces derniers.

Cette pauvreté des akènes mûrs en glucides solubles (1 % environ du poids frais et à peine 1,2 % de la matière sèche) rapproche singulièrement la Scabieuse de Palestine de la Scabieuse prolifère. Elle est corrélative de la structure même de leurs enveloppes, fortement sclérifiées, et de la réduction de leur parenchyme cotylédonaire, spécialement gorgé d'huile (15 % environ).

Glucides de membrane.

Après épuisement étheré et hydroalcoolique, les akènes mûrs de Scabieuse de Palestine, soumis à l'hydrolyse sulfurique à 3 % à l'ébullition durant 5 heures suivant la technique exposée pour la Scabieuse prolifère (v. p. 46), fournissent une liqueur extractive qui présente d'ailleurs une composition très voisine de celle qui a été trouvée à partir des akènes de cette dernière espèce. Les sucres d'hydrolyse sont ici encore le galactose, le xylose et l'arabinose, dans des proportions respectives presque identiques à celles que présentent les akènes de Scabieuse prolifère, comme le fait ressortir la comparaison des chiffres obtenus pour 100 grammes d'akènes :

	GALACTOSE	XYLOSE	ARABINOSE	α_D	RÉDUCT. CALC. EN XYLOSE
Scabieuse de Palestine	1,80	7,34	1,92	+ 9°39'	12,12 %
Scabieuse prolifère	1,86	8,22	1,68	+ 9°34'	11,90 %

On retrouve donc dans cette deuxième espèce de Scabieuse un chimisme particulier qui comporte sans doute une évolution parallèle des glucides au cours de la maturation des akènes, par épuisement de leurs constituants solubles au profit des glucides de membrane, évolution qui n'a pas pu être suivie, faute de temps.

Ce comportement spécial des Scabieuses, au regard des autres espèces de Dipsacées

examinées, dont les akènes sont toujours riches en glucides solubles et spécialement en hétéroside amer, appelle quelques commentaires qui seront exposés dans le chapitre qui sera consacré à la classification et au chimisme chez les Dipsacées.

LES GLUCIDES DE *MORINA PERSICA* L.

Placé tout d'abord par TOURNEFORT, son créateur, dans une classe distincte des vraies Dipsacées (83), le genre *Morina* L. a été rattaché à cette famille par VAILLANT (84) en 1722 et y a été maintenu depuis DE CANDOLLE (19) par la plupart des systématiciens, qui se sont basés sur la présence d'un involucelle gamophylle à la base de la fleur des *Morina*, ce qui est l'un des caractères essentiels des Dipsacées. Il n'en est pas moins vrai que les *Morina* s'écartent de l'ensemble du groupe par le reste de leur organisation morphologique, notamment par leurs feuilles et leur tige épineuses, leurs inflorescences axillaires en cymes contractées, leurs fleurs bilabiées, leurs étamines didyames dont deux seulement sont fertiles, leur pistil tricarpellé à un seul carpelle fertile et leurs akènes asymétriques à une face plane et deux faces anguleuses par compression.

La position systématique de ce genre spécial reste donc discutée, certains auteurs, entre autres VAN TIEGHEM (86) allant jusqu'à lui refuser une place parmi les Dipsacées, et proposant de l'ériger, avec les *Triplostegia* WALL., en famille distincte, celle des Morinacées. A tout le moins s'accorde-t-on pour en faire une tribu distincte, celle des MORINAE.

Cette position aberrante rend donc son étude biochimique particulièrement intéressante, et c'est pourquoi j'ai tenu à examiner la seule espèce du genre représentée en Orient, à savoir le *Morina persica* L., les autres espèces étant originaires d'Extrême-Orient, en particulier de la région himalayenne.

Morina persica L. est une plante vivace très ornementale caractérisée par son port épineux, ses feuilles sinueuses pennatifides et ses verticilles axillaires de fleurs roses à long tube arqué, s'épanouissant au début de l'été. Son aire d'extension va du littoral méditerranéen jusqu'à l'Iran. Elle croît sporadiquement dans les montagnes du Liban à une altitude de 1.000 à 1.500 mètres. C'est de la région d'Ehden que proviennent les échantillons analysés¹, récoltés en juin 1947 vers 1.200 mètres d'altitude.

Interprétation des résultats :

Les résultats fournis par l'essai biochimique du *Morina persica* L. révèlent immédiatement une discordance avec l'ensemble des résultats précédents.

Les liqueurs extractives, soumises à l'action de l'invertine, subissent bien un recul de la déviation initiale en même temps qu'apparaît une certaine quantité de réducteur,

1. Ils m'ont été apportés par le R. P. PAUL MOUTERDE, que je remercie de cette précieuse récolte.

avec un indice de réduction voisin de 600, ce qui indique l'existence du saccharose à côté des oses simples dans les différentes parties de la plante.

TABLEAU 15.

	RACINES	TIGES	FEUILLES	FLEURS
Déviati on initiale	+ 2°30'	+ 5'	— 2'	— 15'
Déviati on invertine.	— 2°20'	— 1°20'	— 1°30'	— 2°37'
Déviati on émulsine.	— 2°18'	— 1°14'	— 1°26'	— 2°20'
Déviati on après HCl 2 %.	— 2°20'	— 1°20'	— 1°30'	— 2°38'
Réducteur initial.	0,625	0,837	0,737	2,087
Réducteur invertine.	3,517	1,774	1,858	3,748
Réducteur émulsine	3,512	1,785	1,942	4,090
Réducteur après HCl 2 %.	3,518	1,774	1,858	3,749
Par invertine recul.	4°50'	1°26'	1°32'	2°52'
Sucre formé.	2,892	0,937	1,121	1,661
Indice	598	660	672	696
Par émulsine retour.	2'	6'	4'	17'
Sucre formé.	0	0,011	0,084	0,342
Indice.	—	—	1260	1206
Amidon.	0	0	0	0
Tanin.	0	0	0	0
Acide chlorogénique	+ end. et liber	0	0	0

Mais, sous l'action de l'émulsine, les extraits de racines, de tiges et de feuilles ne présentent plus de variation sensible de la déviation optique, et ce ferment n'y fait apparaître qu'une quantité de réducteur insignifiante. Les organes végétatifs ne semblent donc pas renfermer d'hétéroside, tout au moins ne renferment-ils pas d'hétéroside justiciable de l'émulsine.

Par contre, l'extrait de fleurs livre dans les mêmes conditions 0 gr. 342 de réducteur complémentaire, et sa déviation effectue un retour de 17' vers la droite. Les fleurs contiendraient donc un principe tributaire de l'émulsine, mais bien différent de l'hétéroside habituel des Dipsacées, car le calcul de son indice de réduction fournit un chiffre voisin de 1200.

Mis à part cet élément spécial aux fleurs, le contingent glucidique de *Morina persica* L. se limite donc aux oses simples et au saccharose. Celui-ci est élaboré par les feuilles, et après avoir subi une légère hydrolyse dans les tiges, s'accumule dans les racines où il constitue la seule réserve glucidique décelable. Il passe aussi en quantité appréciable dans les fleurs, mais celles-ci renferment encore davantage de sucre interverti comme on le constate habituellement au moment de l'épanouissement.

Avec l'absence d'amidon et de fructosane, cette simplicité de la réserve glucidique



constitue le seul point de rapprochement entre le *Morina persica* L. (et sans doute les autres espèces du genre) et les véritables Dipsacées. Le manque d'hétéroside à indice voisin de 210, remplacé par un autre hétéroside d'indice 1200, semble à lui seul un caractère suffisant pour placer cette espèce nettement à part dans la famille des Dipsacées.

CONCLUSIONS

L'étude biochimique comparée de huit espèces de Dipsacées du Proche-Orient nous amène aux conclusions suivantes :

1° En ce qui concerne la nature des glucides identifiés, il n'y a aucune différence entre les espèces annuelles, bisannuelles ou vivaces. Toutes renferment à la fois des oses simples et du saccharose. Ce dernier constitue l'unique holoside de réserve des racines et des graines. On n'a pu nulle part mettre en évidence d'amidon (sauf à titre essentiellement transitoire dans la moelle de tige de Céphalaire de Syrie) ni de fructoholoside.

De plus, à l'exception du *Morina persica* L., toutes les espèces examinées contiennent en quantités variables un hétéroside lévogyre d'indice voisin de 210, hydrolysable par l'émulsine. Le *Morina persica* L. s'écarte donc nettement à ce point de vue des autres Dipsacées étudiées.

2° En ce qui concerne la répartition de ces glucides dans les différents organes, quelques distinctions apparaissent suivant les genres :

Dans les espèces appartenant aux genres *Cephalaria* SCHRAD., *Dipsacus* L. et *Pterocephalus* COULT., la teneur en glucides totaux est relativement élevée dans les différentes parties de la plante. Elle est plus faible dans les espèces du genre *Scabiosa* L. Chez les unes et les autres, les oses simples se répartissent inégalement entre les organes végétatifs et reproducteurs suivant la nature et le rôle de ces organes. Ils sont toujours abondants dans les capitules en floraison.

Le saccharose est plus ou moins abondant dans les tiges et les feuilles. Il s'accumule dans les racines et souvent dans les graines où il forme une partie de la réserve glucidique.

L'hétéroside, constamment présent dans les feuilles, se trouve en quantité relativement faible dans les tiges. Il est plus abondant dans les racines et davantage encore dans les capitules en floraison. Sa proportion dans les akènes mûrs est assez variable ; et il y a lieu, à ce point de vue, de séparer assez nettement les *Scabieuses* des autres Dipsacées examinées. Dans les *Cephalaria*, les *Dipsacus* et les *Pterocephalus*, la teneur des akènes en hétéroside est souvent considérable, au point qu'on peut *a priori* considérer ce principe comme un élément secondaire de la réserve glucidique. Par contre, les akènes mûrs des *Scabieuses* n'en renferment qu'une proportion insignifiante. La réserve glucidique soluble y est d'ailleurs négligeable.

CHAPITRE IV

LOCALISATION MICROCHIMIQUE DE L'HÉTÉROSIDE DANS LA CÉPHALAIRE DE SYRIE ET LES AUTRES DIPSACÉES DU PROCHE-ORIENT

L'hétéroside de *Cephalaria syriaca* L. prenant une coloration rouge pourpre au contact de l'acide sulfurique pur, on s'est servi de cette réaction de coloration, à défaut d'une autre réaction plus spécifique, pour les essais de localisation de cet hétéroside dans les différentes parties de la plante au cours de son évolution annuelle et au cours de sa germination.

Technique :

Une coupe d'organe, pratiquée à sec, est placée entre lame et lamelle. On dépose sur le côté de la lamelle une goutte de SO^4H^2 pur ou légèrement dilué qu'on laisse pénétrer par capillarité. Au bout de une à cinq minutes, on voit apparaître une coloration rouge pourpre plus ou moins intense suivant la richesse en hétéroside de l'organe considéré. Cette coloration persiste plusieurs heures, même après désagrégation des tissus.

I. — LOCALISATION DE L'HÉTÉROSIDE DANS LES DIFFÉRENTS ORGANES DE LA CÉPHALAIRE DE SYRIE

La localisation de l'hétéroside à l'aide de SO^4H^2 a pu être effectuée dans les différents organes durant toute l'évolution de la plante, mais plus spécialement au cours de la maturation des akènes et lors de leur germination, ces deux périodes étant justement marquées par une augmentation dans le premier cas, par une disparition presque complète dans le second, de l'hétéroside dont on a suivi la destinée par les essais biochimiques.

Organes végétatifs :

Dès l'apparition des premières feuilles on obtient une faible coloration rose dans le parenchyme chlorophyllien des feuilles ainsi que dans le parenchyme cortical de la tige et de la racine.

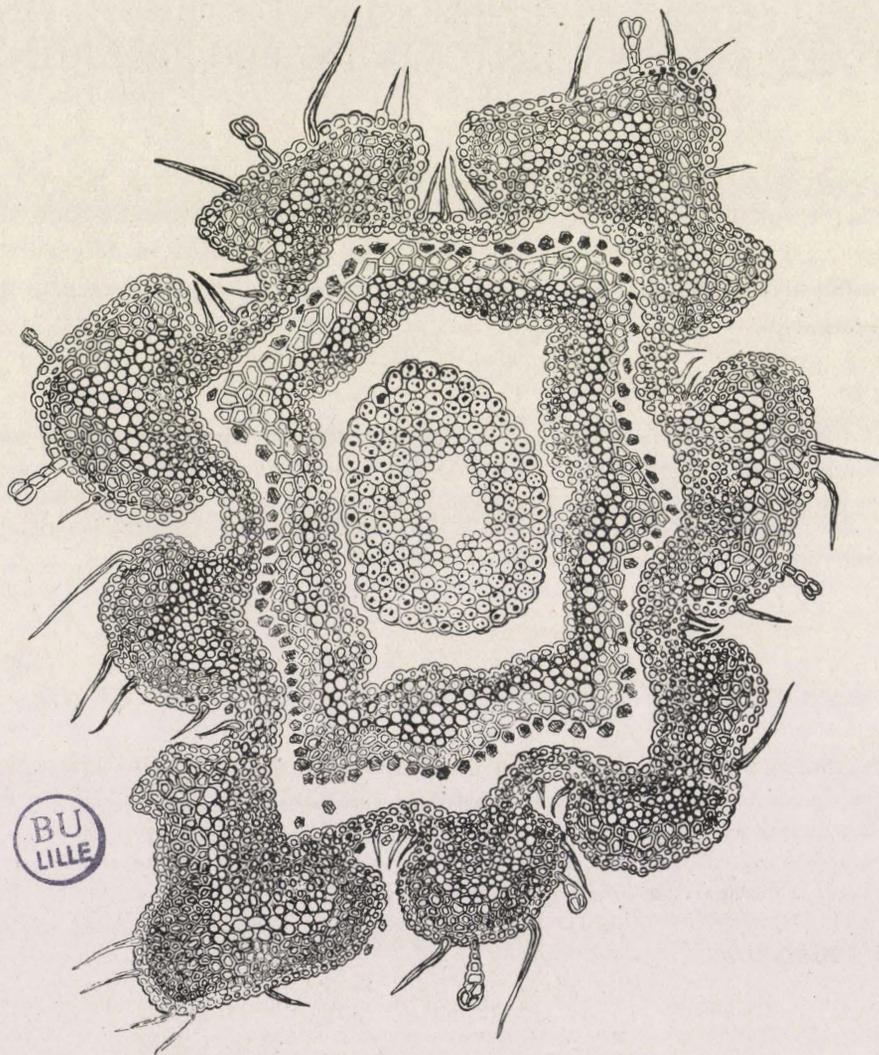
Au cours de l'évolution annuelle, et jusqu'à la fin de la végétation, la coloration s'accroît et devient peu à peu rouge pourpre, mais reste toujours strictement localisée au parenchyme cortical et au péricycle jusqu'à la limite externe des faisceaux libéro-ligneux ou de l'assise cambiale, sans jamais atteindre le parenchyme médullaire. Il en est de même dans les nervures foliaires.

Akènes en formation :

Dès qu'on peut observer microscopiquement l'œuf en voie de développement, on voit apparaître sous l'action de SO^4H^2 un liseré rose à la périphérie de l'albumen. Au fur et à mesure que s'effectue la maturation des akènes, la coloration s'accroît et passe au rouge pourpre, en s'irradiant peu à peu dans tout l'albumen et dans les cotylédons en formation.

Akènes mûrs (voir fig. 10) :

La coupe d'akène mûr, dégraissée à l'éther de pétrole, prend immédiatement au contact de SO^4H^2 une coloration rouge pourpre intense sur toute son étendue, avec une accentuation autour



X. Adis, Del.

FIG. 10. — AKÈNE MÛR de *Cephalaria syriaca* L. (SCHRAD).
Coupe transversale.

des faisceaux libéro-ligneux et sur la ligne commissurale des cotylédons. Les téguments et le péricarpe ne prennent qu'une coloration jaune. On a vu d'ailleurs qu'ils ne renferment pas d'hétéroside.

Graines en germination :

Au quatrième jour de la germination, lorsque la radicule commence à sortir, la coloration sulfurique reste à peu de choses près aussi intense que dans les akènes mûrs, mais bientôt elle s'affaiblit et finit par disparaître du tissu de réserve en commençant par l'albumen. Au dixième jour, lorsque la plantule commence à s'étioler, on n'observe plus qu'un liseré rouge sur l'épiderme cotylédonnaire et qu'une faible coloration rose autour des faisceaux.

Simultanément, des coupes pratiquées à différents niveaux de l'axe végétatif de la plantule montrent une localisation de la coloration rouge autour des faisceaux libéro-ligneux, depuis le bourgeon terminal jusqu'à l'extrémité de la racine, avec une accentuation marquée dans les zones méristématiques. En fin de germination, la coloration à SO^4H^2 s'atténue, en s'irradiant des faisceaux vers le parenchyme cortical, et ne persiste plus avec quelque intensité qu'au voisinage du bourgeon terminal.

Tout se passe comme si l'hétéroside suivait le trajet des faisceaux libéro-ligneux de la plantule à partir du parenchyme cotylédonnaire, d'une part pour se disperser dans le manchon cortical de l'axe végétatif, d'autre part pour se concentrer au voisinage du bourgeon terminal jusqu'au développement des premières feuilles.

On pourrait objecter que cette interprétation est audacieuse, la coloration rouge produite par SO^4H^2 manquant de spécificité, puisqu'elle est obtenue avec une foule de principes très divers (hétérosides, alcaloïdes, principes amers, etc.). On fera simplement remarquer que l'intensité de la coloration observée est justement corrélative des variations de la teneur en hétéroside révélées par les essais biochimiques au cours de la maturation des akènes et durant leur germination. Cette superposition ne saurait être qu'une simple coïncidence. Elle plaide en faveur d'une réelle valeur de la coloration sulfurique appliquée au cas spécial de la localisation du principe amer chez les Dipsacées.

Quoi qu'il en soit, on ne cherchera pas à en tirer d'autre conclusion qu'une indication précieuse sur la présence de l'hétéroside dans les organes examinés. Et, c'est dans cet esprit qu'elle sera utilisée pour la recherche éventuelle de ce principe dans les organes des autres espèces, comme l'a déjà fait A. GORIS pour de nombreux hétérosides (40).

II. — LOCALISATION DE L'HÉTÉROSIDE DANS QUELQUES AUTRES ESPÈCES DE DIPSACÉES

On a donc essayé l'action de SO^4H^2 sur les coupes d'organes végétatifs et d'akènes de *Cephalaria joppica*, *C. dipsacoides*, *Dipsacus laciniatus*, *Pterocephalus plumosus*, *Scabiosa prolifera* et *Scabiosa paloestina*.

Partout, sans aucune exception, SO^4H^2 a déterminé l'apparition d'une coloration rouge plus ou moins accentuée sur les coupes pratiquées à sec, au niveau du paren-

chyme cortical de la racine et de la tige, et du parenchyme chlorophyllien dans les limbes foliaires.

Partout également, les akènes en maturation ont présenté sous l'action de SO_4H^2 une coloration rouge très vive, localisée dans l'albumen et les cotylédons, particulièrement autour des faisceaux libéro-ligneux cotylédonaire et le long de l'épiderme commissural. Cette coloration a persisté dans les akènes mûrs du *Cephalaria joppica*, du *Cephalaria dipsacoides* et du *Pterocephalus plumosus* (voir fig. 11). Elle s'est atténuée en coloration rose dans les akènes mûrs de *Scabiosa prolifera* et de *Scabiosa paloestina*.

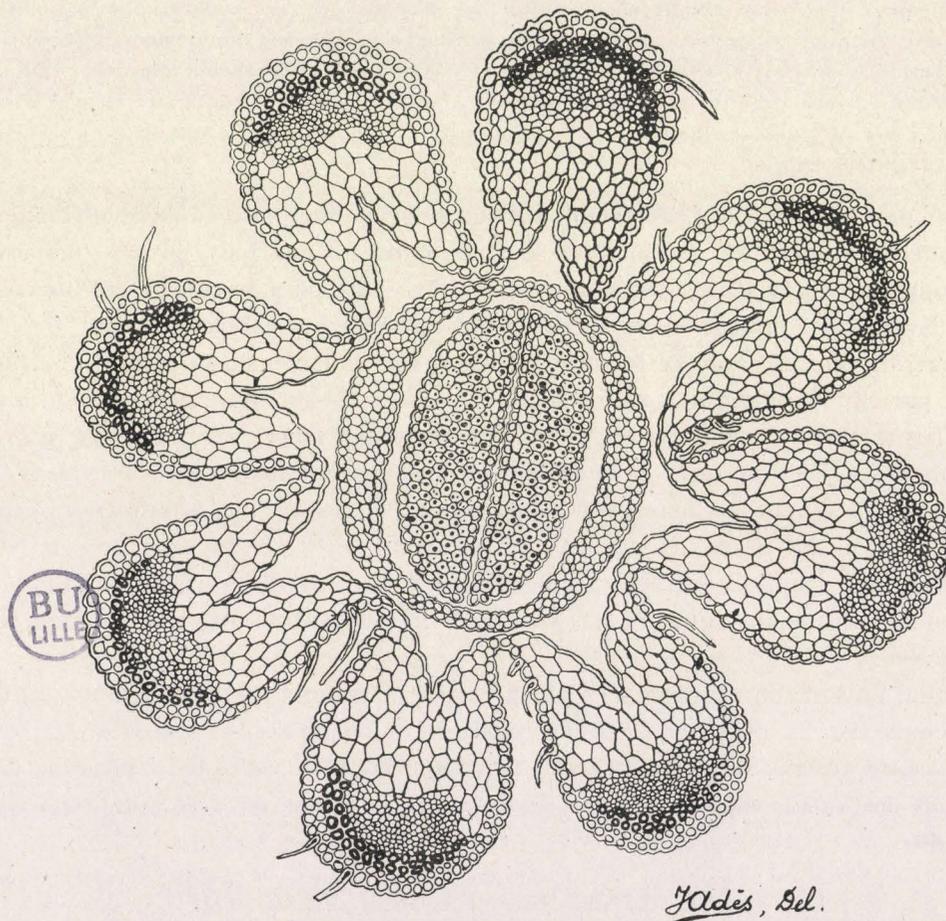


FIG. 11. — AKÈNE MÛR de *Pterocephalus plumosus* L. (COULT).
Coupe transversale.

DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE CHIMIQUE ET BIOCHIMIQUE DU CÉPHALAROSIDE

CHAPITRE PREMIER

EXTRACTION ET PURIFICATION

Les premiers essais biochimiques ayant révélé la richesse en hétéroside des akènes de *Cephalaria syriaca* L., c'est ce matériel qui a été choisi pour l'extraction de ce principe amer.

I. — TRAITEMENT INITIAL

Les akènes sont broyés au moulin et la farine obtenue déshuilée par lixiviation à l'éther de pétrole. La poudre ainsi délipidée est épuisée par lixiviation à l'alcool à 75°, soit à froid, soit à chaud au Soxhlet. Les liqueurs alcooliques, brunes, sont distillées sous pression réduite, en présence de carbonate de calcium, jusqu'à disparition de l'alcool et l'extrait obtenu évaporé à sec au vide.

Cet extrait initial a été traité successivement par différents procédés en vue de rechercher la meilleure méthode d'extraction de l'hétéroside.

II. — ESSAIS D'EXTRACTION DE L'HÉTÉROSIDE

1^o Procédé de Bourquelot et Bridel.

Le procédé utilisé par BOURQUELOT et BRIDEL pour l'extraction de l'hétéroside des racines du *Scabiosa succisa* L. (13) consistait à épuiser tout d'abord l'extrait initial par cinq parties d'acétone bouillante, à trois reprises successives. Le résidu de distillation des liqueurs acétoniques est dissous dans l'eau, déféqué à l'extrait de Saturne, et le filtrat distillé à sec au vide. Ce second résidu est repris par un mélange d'acétone et d'alcool absolu, et la solution obtenue, après précipitation des impuretés par addition de chloroforme, est évaporée à sec. Ce troisième résidu est repris par l'eau distillée froide, la solution filtrée est évaporée à sec au vide. Le quatrième résidu

est finalement épuisé par l'éther acétique bouillant à trois reprises successives et les liqueurs éthéro-acétiques évaporées au vide. Le résidu obtenu constitue la « scabiosine ».

Appliqué à l'extrait d'akènes de Céphalaire de Syrie, ce procédé a fourni un produit pur, incolore et transparent, mais les opérations sont longues et compliquées, et surtout le rendement est fort médiocre, du fait de la très faible solubilité de l'hétéroside dans l'éther acétique anhydre ou hydraté (en solution saturée à chaud elle est d'environ 0 gr. 150 %).

2° Procédé de Wattiez :

Le même reproche peut être fait au procédé employé par WATTIEZ pour l'extraction du « scabioside » des feuilles de *Scabiosa succisa* L. (88).

Sa technique n'est d'ailleurs qu'une modification de celle de BOURQUELOT et BRIDEL, utilisant notamment pour l'épuisement de l'extrait initial, au lieu d'acétone anhydre, l'acétone hydratée à 10 % puis à 2 % d'eau, et, pour la purification de l'hétéroside, la précipitation par l'éther dans les liqueurs éthéro-acétiques.

Une variante de cette technique appliquée par ce même auteur à l'extraction du « scabioside » des feuilles du *Dipsacus arvensis* L. (89) introduit une purification intermédiaire de l'hétéroside par précipitation à l'aide d'acétate de plomb ammoniacal, suivant une méthode déjà utilisée par Ch. TANRET en 1894 pour l'obtention du « picéoside » (81).

Cette modification permet d'obtenir un produit plus pur, et en ce sens elle est intéressante, mais la technique n'en est pas moins longue et difficile, et surtout, elle n'améliore pas le rendement en hétéroside qui reste extrêmement faible, puisqu'il faut toujours passer par l'épuisement éthéro-acétique.

C'est ainsi qu'à partir de 75 grammes d'akènes de Céphalaire (contenant environ 2 grammes d'hétéroside), je n'ai obtenu par la technique de Wattiez que 0 gr. 300 de résidu final.

3° Extraction par les poudres déféquées :

J'ai alors pensé à utiliser les méthodes d'extraction par épuisement de « poudres déféquées » soit au plomb, selon la technique mise au point par H. HÉRISSEY (48), soit à la magnésie, selon le procédé de RABATÉ (74-75). L'avantage de ces méthodes réside non seulement dans la perfection de la défécation, mais dans la simplicité de leur mise en œuvre.

D'après la méthode de H. HÉRISSEY, l'extrait initial dilué est mélangé au mortier avec un léger excès d'extrait de Saturne (déterminé par un essai préalable sur 1 à 2 cm³ d'extrait traité par l'extrait de Saturne jusqu'à cessation de précipité), puis additionné de sulfate de sodium sec (en quantité calculée pour qu'un gramme de sulfate de sodium représente au moins 1 gramme d'extrait initial et 0 cm³ 75 d'extrait de Saturne) et d'une quantité de carbonate de calcium égale au quart du poids de sulfate de sodium mis en œuvre. On triture et on abandonne la masse à l'air libre jusqu'à ce qu'elle prenne une consistance demi-solide. Puis on étale celle-ci dans une cuvette de porcelaine et on termine la dessiccation à l'étuve à 35°-40°. On broie ensuite au moulin. La poudre obtenue ou « poudre déféquée » est alors épuisée par l'éther acétique anhydre pour l'obtention de l'hétéroside.

Dans la méthode à la magnésie, l'extrait initial est mélangé de la même façon avec une quantité suffisante de magnésie calcinée, et la masse obtenue est desséchée puis pulvérisée comme ci-dessus pour l'épuisement ultérieur.

La technique de H. HÉRISSEY, appliquée au traitement de 300 grammes de poudre d'akènes de Céphalaire dégraissée, a fourni d'emblée un produit de belle apparence, mais le rendement n'a pas dépassé 1 gr. 50 par suite de la faible solubilité, déjà signalée, de l'hétéroside dans l'éther acétique. La majeure partie du principe amer est restée dans la poudre déféquée, et sa récupération ultérieure par les solvants alcooliques a donné un produit très impur.

L'utilisation de la magnésie n'a pas permis d'obtenir de meilleurs résultats. La magnésie fixe en effet l'hétéroside dont la fonction lactonique s'ouvre sous l'action des bases alcalines pour former des sels insolubles dans l'éther acétique (v. p. 80).

4° *Autres essais d'extraction :*

Après diverses tentatives, utilisant notamment le traitement de l'extrait initial par le sulfate d'ammonium à saturation ou son épuisement direct par les solvants neutres, tentatives infructueuses ou aboutissant à fournir un produit très impur, j'ai finalement adopté une technique d'extraction inspirée à la fois du procédé de Ch. TANRET basé sur la précipitation de l'hétéroside sous forme d'un complexe plombique ammoniacal facilement dissociable, et de la méthode d'adsorption sur charbon utilisée par KARRER pour l'obtention des hétérosides du Muguet de mai (56).

J'avais remarqué préalablement que le principe amer de la Céphalaire est complètement entraîné par l'acétate de plomb ammoniacal¹, et qu'il est énergiquement retenu par le charbon végétal activé, avec récupération satisfaisante par certains solvants neutres, comme l'alcool éthylique ou l'alcool méthylique anhydres. Ce dernier solvant m'ayant donné les meilleurs résultats, c'est lui qui a été utilisé pour la dernière phase de l'extraction. Voici ma technique détaillée :

III. — *TECHNIQUE D'EXTRACTION DU CÉPHALAROSIDE*

L'extrait alcoolique résultant du traitement initial d'environ 1 kg. de poudre d'akènes délipidée, repris par un litre d'eau distillée, est déféqué par 100 cm³ d'extrait de Saturne additionné de 50 grammes d'acétate neutre de plomb. Le filtrat plombique jaune brun est additionné d'ammoniaque jusqu'à franche alcalinité. Le volumineux précipité obtenu est essoré sur Büchner, lavé à l'eau et mis en suspension dans 500 cm³ d'eau distillée. Il est décomposé avec précaution par une quantité suffisante d'acide sulfurique au 1/10 pour atteindre une très légère acidité, qu'on neutralise immédiatement avec un excès de carbonate de baryum. Le magma est essoré sur filtre au Büchner, lavé à l'eau distillée et le filtrat traité de nouveau par 250 cm³ de solution au 1/5 d'acétate neutre de plomb puis par de l'ammoniaque diluée. Ce second précipité, essoré et lavé, est

1. Contrairement aux autres bases alcalines, l'ammoniaque n'a pas d'action sur la fonction lactonique.

traité comme ci-dessus par l'acide sulfurique dilué avec neutralisation immédiate par le carbonate de baryum et le tout soumis à une nouvelle filtration. Ce deuxième filtrat, jaune clair, présente un pouvoir rotatoire de -16° pour un total de 500 cm^3 de liquide. Il est agité avec de l'éther pour éliminer l'acide acétique, puis mis en contact avec 100 grammes de charbon végétal activé jusqu'à décoloration complète et disparition du pouvoir rotatoire du liquide. Ce résultat atteint, le charbon est essoré, lavé à l'eau distillée, puis avec une très petite quantité d'alcool absolu, et finalement à l'éther anhydre, puis séché au vide.

Le charbon sec est alors tassé dans une allonge à robinet et élué lentement, goutte à goutte, avec de l'alcool méthylique absolu. Après passage d'environ 600 cm^3 d'alcool méthylique, les dernières portions de liquide n'ont plus qu'un pouvoir rotatoire d'environ $30'$. On arrête l'éluition et le filtrat méthylique, presque incolore, est concentré sous pression réduite en présence d'une petite quantité de charbon activé destiné à parfaire sa décoloration.

Finalement, l'extrait méthylique est évaporé au vide sulfurique jusqu'à dessiccation totale. On obtient environ 30 grammes d'un résidu blanc crème, amorphe, friable et très hygroscopique, dont le pouvoir rotatoire absolu en solution méthylique s'élève à $-95^{\circ}20'$ à $+25^{\circ}$.

Ce résidu, constitué par l'hétéroside, est encore souillé de quelques impuretés (notamment de traces de saponine, révélées par l'index hémolytique), qu'il est très difficile de lui enlever totalement.

IV. — PURIFICATION DU CÉPHALAROSIDE

L'hétéroside encor impur provenant de l'extraction précédente est très soluble dans l'eau, l'alcool à 95° , l'alcool méthylique, très peu soluble dans l'acétone, à peine dans l'acétate d'éthyle et totalement insoluble dans l'éther et le chloroforme.

On a tout d'abord tenté sa purification par précipitation de la solution alcoolique avec ces derniers solvants. Il se forme une masse visqueuse, transparente, mais encore colorée, qui, redissoute dans l'alcool, ne présente pas de pouvoir rotatoire plus accusé.

On a essayé sans plus de succès la purification par adsorption chromatographique sur différentes poudres inertes. Le kaolin et le carbonate de calcium ne retiennent rien. L'alumine anhydre n'adsorbe que très imparfaitement le produit et le liquide d'éluition reste coloré.

On a donc redissous l'hétéroside dans l'alcool méthylique absolu et la solution a été remise en contact avec une petite quantité de charbon activé jusqu'à décoloration totale. 10 cm^3 de liquide, évaporés, fournissent un résidu blanc, amorphe, dont le pouvoir rotatoire absolu s'élève à $-101^{\circ}30'$.

La solution méthylique, filtrée, a été additionnée d'un grand volume d'éther anhydre. Le précipité obtenu a été séparé et redissous dans l'alcool méthylique absolu. Cette dernière solution méthylique, incolore, évaporée lentement au vide sulfurique, abandonne environ 20 grammes d'un résidu très blanc, amorphe, friable, très hygroscopique, dont le pouvoir rotatoire absolu atteint finalement -104° à $+20^{\circ}$.

Une nouvelle adsorption sur charbon, suivie d'une précipitation à l'éther, n'a pas permis de pousser plus loin la purification, le pouvoir rotatoire du produit se fixant entre -104° et $-104^{\circ}30'$ à $+20^{\circ}$.

Malgré de nombreux essais, la cristallisation à l'échelle macroscopique n'a pu être obtenue avec aucun des nombreux solvants employés (alcool, acétone, acétate d'éthyle anhydre ou hydraté, acide acétique, dioxane, etc.) ni par refroidissement d'une solution saturée à chaud, ni par évaporation lente, ni par superposition d'éther ou de

chloroforme. Toutefois, une solution saturée à chaud dans l'acétate d'éthyle anhydre laisse déposer une très petite quantité d'un produit blanc pur qui, vu au microscope, se montre formé de petites mâcles cristallines en oursins ou en croix, se liquéfiant au contact de la moindre trace d'humidité. La très faible solubilité du produit dans l'acétate d'éthyle ne permettait pas d'en obtenir une quantité suffisante pour tous les essais physico-chimiques. L'hétéroside amorphe ayant d'ailleurs un pouvoir rotatoire aussi élevé que l'hétéroside microcristallin précédent, on peut le considérer, semble-t-il, comme un produit suffisamment pur pour présenter des constantes définies. Le nom de « CÉPHALAROSIDE » est proposé provisoirement pour cet hétéroside extrait de *Cephalaria syriaca* L. (SCHRAD).

CHAPITRE II

PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES DU CÉPHALAROSIDE. ANALYSE ÉLÉMENTAIRE

I. — PROPRIÉTÉS PHYSIQUES

Le céphalaroside purifié se présente sous forme d'une poudre micro-cristalline blanche, inodore, mais de saveur fortement amère.

Il est très hygroscopique et ne peut être maintenu à l'état pulvérulent qu'en ampoules scellées ou flacons paraffinés, après dessiccation au vide phosphorique.

Sa solution aqueuse présente une fluorescence bleu pâle en lumière de WOOD.

Perte de poids :

Placée dans l'appareil de BOUILLOT (8), la substance, préalablement desséchée au vide phosphorique, ne subit après un séjour de deux heures dans le vide à t° plus élevée, qu'une légère diminution de poids :

A 60° la perte n'est que de 0,015 %.

A 80° la perte est de 0,020 %.

A 100° la perte est de 0,05 %, soit au total environ 0,085 %.

Solubilités :

Cette détermination a été faite par agitation d'un excès de produit finement pulvérisé, dans 15 cm³ de solvant, durant 2 heures à la température ordinaire, après chauffage de quelques minutes au bain-marie. La solution étant filtrée rapidement, on en pèse 10 cm³ dans une capsule tarée, on évapore le solvant et on dessèche le résidu à poids constant au vide phosphorique. Connaissant le poids de la substance dissoute, le poids du solvant est fourni par différence. Voici les résultats obtenus, rapportés à 100 grammes de solvant, par ordre de solubilité décroissante :

SOLVANT	POIDS D'HÉTÉROSIDE DISSOUS EN GRS %
Eau distillée.	200
Alcool méthylique anhydre	51,860
Acide acétique cristallisable.	23,730

SOLVANT	POIDS D'HÉTÉROSIDE DISSOUS EN GR %
Alcool à 95°.....	16,500
Alcool absolu.....	5,450
Dioxane pur.....	1,777
Acétone anhydre.....	0,840
Acétate d'éthyle anhydre.....	0,150
Acétate d'éthyle saturé d'eau.....	0,133

Il est totalement insoluble dans l'éther de pétrole, le benzène, l'éther éthylique, le chloroforme et les huiles végétales.

Pouvoir rotatoire :

Cette détermination a été effectuée sur le produit anhydre, avec différents solvants purs, à l'aide d'un polarimètre Laurent, au tube de 2 décimètres, en utilisant le rayonnement d'une lampe à vapeur de sodium (raie D). Voici les valeurs trouvées à la température de 20° :

SOLVANT	POIDS EN GR.	V EN CM ³	α	(α) _D 15°
Eau distillée.....	0,2005	20	— 2°06'	— 104°73
Alcool absolu.....	0,2060	20	— 2°09'	— 104°36
Alcool à 95°.....	0,1751	20	— 1°50'	— 105°48
Alcool méthylique.....	0,1993	20	— 2°05'	— 104°51
Acide acétique pur.....	0,3991	40	— 4°08'	— 103°73
Acétone anhydre.....	0,0702	10	— 1°29'	— 105°62
Acétate d'éthyle anhydre.....	0,0135	10	— 17'	— 104°81
Acétate d'éthyle hydraté.....	0,0040	10	— 5'	— 103°75
Dioxane pur.....	0,1552	10	— 3°12'	— 103°09



Point de fusion :

Chauffé au tube capillaire, le produit jaunit vers 170°, en se ramollissant. Il brunit et se liquéfie vers 200°, puis se boursoufle et se caramélise.

Au bloc MAQUENNE, les mêmes phénomènes se produisent. Il est donc difficile d'observer un point de fusion net. Le point de fusion instantané est au voisinage de 208-210°.

Grandeur moléculaire :

Cette détermination a été tentée par voie physique et par voie chimique.

PAR VOIE PHYSIQUE.

Cryoscopie dans l'acide acétique :

Céphalaroside.....	0 gr. 172
Acide acétique cristallisable.....	6 gr. 020
Concentration %.....	2,857 %
$\Delta = 0,65$	$K = 39$

Coefficient d'abaissement :

$$\frac{0,65}{2,857} = 0,227 \quad \text{PM} = \frac{39}{0,227} = 171$$

Ce résultat est trop faible. Le céphalaroside présente donc des anomalies cryoscopiques, comme certains glucosides analogues, le « méliatoside » ou « loganoside », par exemple (MERZ, 64).

Cryoscopie dans le dioxane :

Le dioxane utilisé pour cette détermination a été soigneusement purifié suivant la technique d'OXFORD (69) par ébullition prolongée avec 1/10 de son poids d'HCIN, déshydratation sur soude caustique, puis distillation sur sodium après contact de 24 heures. On a recueilli la fraction passant à 101°-102°.

Céphalaroside.	0 gr. 1355.
Dioxane	10 gr. 353
Concentration	1,309 %
Point de congélation du dioxane	11°22
$\Delta = 0^{\circ}50$	$K = 47$

Coefficient d'abaissement :

$$\frac{0,50}{1,309} = 0,276 \quad \text{PM} = \frac{47}{0,276} = 170$$

Ce résultat est également trop faible. Aucun de ces deux chiffres ne peut être retenu.

Cryoscopie dans le camphre :

Cette détermination, faite selon la méthode de RAST, en suivant la technique de DURAND (36), n'a pas donné les résultats attendus, le mélange de camphre et de céphalaroside brunissant avant la température de fusion. Les essais ont été abandonnés.

PAR VOIE CHIMIQUE :

Par détermination de l'indice de méthoxyle :

La méthode utilisée est celle de F. VIEBOCK et C. BRECHER, décrite dans l'ouvrage de FRIEDRICH (39). Une description sommaire de la méthode, sera donnée plus loin (voir p. 81).

Le pourcentage en « méthoxy » trouvé par cette méthode, ayant été en moyenne de 8,20 %, le poids moléculaire du céphalaroside est donc au voisinage de :

$$\frac{31 \times 100}{8,2} = 378$$

en admettant 1 OCH³ (= 31) par molécule.

Par ouverture de la fonction lactone :

Le céphalaroside ayant une fonction lactone, on peut, par ouverture de cette fonction à l'aide des bases alcalines, connaître la quantité d'alcali fixée par la molécule et calculer ainsi approximativement le poids moléculaire de la substance. Cette déter-

mination a été faite à l'aide de NaOH N/10 et de la magnésie, selon des méthodes qui seront décrites plus loin (voir p. 79 et 80).

a) *Par combinaison sodique :*

Prise d'essai : 0 gr. 900. NaOH fixée après 48 heures : 0 gr. 010, ce qui donne, avec 1 NaOH fixé par molécule :

$$PM = \frac{40 \times 0,09}{0,01} = 360$$

b) *Par combinaison magnésienne :*

Prise d'essai : 0 gr. 100. MgO fixé pour 100 grammes : 5,25 %, ce qui donne, avec 1 MgO fixé pour deux molécules :

$$PM = \frac{40,3 \times 100}{5,25 \times 2} = 380$$

*Étude du spectre d'absorption dans l'ultra-violet*¹.

Cette détermination a été faite à l'aide de solutions d'hétéroside M/100 et M/200 dans l'alcool à 95°, sous différentes épaisseurs, le solvant et la solution d'hétéroside

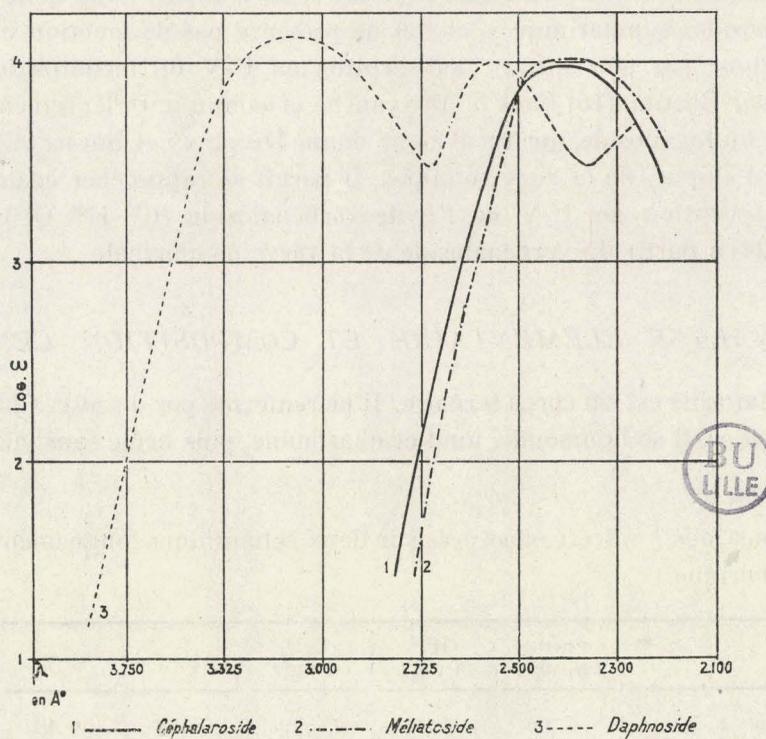


FIG. 12. — SPECTRE D'ABSORPTION DANS L'ULTRA-VIOLET DU CÉPHALAROSIDE, DU MÉLIATOSIDE ET DU DAPHNOSIDE.

1. Ces spectres ont été déterminés dans le laboratoire de M^{me} RAMART-LUCAS, à la Faculté des Sciences de Paris.

étant placés dans deux cuves parallèles et de même longueur, à fenêtre de quartz, adaptées à un prisme de HUFFNER en liaison avec un spectrographe de ZEISS utilisant comme source d'ultra-violet une lampe à hydrogène système CHALLENGE.

Les résultats sont représentés par une courbe tracée en portant en abscisses les longueurs d'onde, et en ordonnées les logarithmes des coefficients d'absorption obtenus sous différentes épaisseurs et différentes concentrations.

On a représenté sur le même graphique (fig. 12) la courbe d'absorption d'un glucoside coumarinique, en l'espèce le « daphnoside », et celle du « méliatoside » ou « loganoside », dont la constitution, d'après MERZ et KREBS (64) diffère de celle des glucosides coumariniques par une plus grande saturation du noyau cyclique, ce qui en ferait un dérivé du cyclohexène, toujours à anneau lactonique, avec un groupe « méthoxy » et un oxhydrile non phénolique.

La comparaison de ces trois courbes montre nettement l'étroite ressemblance entre celle du « céphalaroside » et celle du « méliatoside ». Il n'existe dans l'un et l'autre cas qu'un seul maximum d'absorption pour $\lambda = 2.400 \text{ \AA}$, tandis que le « daphnoside » présente deux maxima d'absorption, déplacés vers les plus grandes longueurs d'onde.

Le céphalaroside, dont la formule est celle d'un composé plus riche en hydrogène que les glucosides coumariniques, et qui ne présente pas de fonction phénol libre, se rapproche donc par son spectre d'absorption en U-V du méliatoside ($\text{C}^{17} \text{H}^{26} \text{O}^{10}$) découvert par BRIDEL (16) dans le Ményanthe et connu antérieurement sous le nom de loganine ou loganoside, que lui avaient donné DUNSTAN et SHORT (37) après l'avoir isolé, à l'état impur, de la noix vomique. Il paraît se rapprocher également par son spectre d'absorption en U-V de l'hydroverbénaloside ($\text{C}^{17} \text{H}^{28} \text{O}^{10}$) préparé par CHEYMOL (24) à partir du verbénaloside de la verveine officinale.

II. — ANALYSE ÉLÉMENTAIRE ET COMPOSITION CENTÉSIMALE

Le céphalaroside est un corps ternaire. Il ne renferme pas d'azote. Chauffé dans une capsule de silice, il se boursoufle, fond et charbonne, puis brûle sans laisser de résidu.

Combustions :

Les combustions ¹ ont été effectuées sur deux échantillons longuement desséchés au vide phosphorique.

	POIDS en mgr.	OH ² en mgr.	CO ² en mgr.	H %	C %	O % (par différence)
Échantillon n° 1.....	7,66	4,41	14,29	6,44	50,91	42,65
Échantillon n° 1.....	9,11	5,26	19,96	6,42	50,53	43,05
Échantillon n° 2.....	10,01	6,01	18,68	6,71	50,90	42,31
Échantillon n° 2.....	9,09	5,45	17,05	6,79	51,18	42,03
Soit en moyenne.....	—	—	—	6,59	50,88	42,53

1. Les combustions ont été effectuées dans le laboratoire de microanalyse organique du C. N. R. S.

Formule :

Pour un poids moléculaire de : 376, le calcul donne :

FORMULE	P. M.	C %		H %		O %	
		calculé	trouvé	calculé	trouvé	calculé	trouvé
$C^{16}H^{24}O^{10}$	376	51,00	50,88	6,38	6,59	42,62	42,53

La formule provisoire proposée pour le céphalaroside est donc :
 $C^{16}H^{24}O^{10}$ pour un poids moléculaire de : 376.



III. — PROPRIÉTÉS CHIMIQUES

Réactions colorées :

1° Avec les acides et les bases.

L'acide sulfurique concentré donne avec quelques milligrammes de céphalaroside une coloration rouge pourpre intense, persistant même après addition de quelques gouttes d'eau. Il en est de même avec l'acide sulfo-vanadique, l'acide sulfo-molybdique et l'acide sulfurique sélénieux.

L'acide chlorhydrique ne produit rien à froid. Au B. M., apparaît une coloration rose avec précipité blanc. L'acide nitrique donne une coloration jaune pâle qui devient orangée après addition d'ammoniaque sur le résidu d'évaporation au B. M.

La soude diluée dissout le produit avec coloration jaune et disparition de l'amertume. La même réaction se produit avec l'eau de baryte, mais l'ammoniaque dissout le produit sans coloration et sans perte de l'amertume.

2° Avec les phénols.

Quelques milligrammes de céphalaroside sont triturés avec une à deux gouttes d'HCl pur. En ajoutant à ce mélange quelques gouttes de solution alcoolique à 1 % d'orcinol, on obtient au B. M. une coloration jaune d'or. Dans les mêmes conditions, le résorcinol produit une coloration rose et le phloroglucinol une coloration rosée. Ces réactions s'obtiennent avec un certain nombre de principes amers non glucosidiques (65).

Une solution aqueuse diluée d'hétéroside, chauffée légèrement et additionnée après refroidissement de quelques gouttes de solution alcoolique à 1 % d' α naphtol, puis de 2 cm³ d'acide sulfurique pur, qu'on fait couler avec précaution au fond du tube (réaction de MOLISCH) donne à la surface de séparation un anneau bleu vert ; avec l'orcinol, l'anneau est jaune d'or.

3° Avec les aldéhydes.

L'acide chlorhydrique additionné de vanilline produit au B. M. une coloration lilacée. L'acide chlorhydrique additionné de paradiméthylaminobenzaldéhyde (R. D'EHR-
LICH) produit au B. M. après évaporation à sec et affusion d'acide acétique, une colo-
ration bleu violacé. Ces réactions ne paraissent pas spécifiques. Elles sont fournies
avec des composés très divers (hétérosides divers, dérivés terpéniques, picrotoxine,
etc.).

Réactions diverses.

La solution de céphalaroside n'est précipitée ni par la solution d'iode iodurée, ni
par le tanin, ni par l'acide picrique, ni par aucun des réactifs généraux des alcaloïdes.

Action des sels de plomb.

La solution au 1/10 d'acétate neutre de plomb ne précipite pas le céphalaroside.
La solution reste limpide et le pouvoir rotatoire ne varie pas.

La solution de sous-acétate de plomb ajoutée à la solution de céphalaroside dans la
proportion de 1/10 de son volume, produit un léger trouble. Le mélange filtré et exa-
miné au polarimètre ne présente pas de variation sensible du pouvoir rotatoire, compte
tenu de la dilution.

*On peut en conclure que les sels de plomb employés comme défécants n'ont pas d'action
sur le pouvoir rotatoire de l'hétéroside.*

Par contre, ces deux sels de plomb, additionnés d'un léger excès d'ammoniaque au
1/10 après mélange avec la solution d'hétéroside, entraînent la formation d'un volu-
mineux précipité blanc qui retient la totalité du principe lévogyre. Le filtrat ne pré-
sente plus de pouvoir rotatoire appréciable.

Le précipité, recueilli sur filtre, lavé, puis décomposé par SH^2 ou addition ménagée
de SO^4H^2 1/10, libère l'hétéroside intact. Après neutralisation par le carbonate de
baryum, le liquide filtré et ajusté au volume primitif est examiné au polarimètre. On
retrouve le pouvoir rotatoire de la solution initiale avec une légère diminution due à
des pertes inévitables. Sur une solution de céphalaroside qui présentait initialement
une déviation de $-1^{\circ}36'$ les opérations précédentes n'ont entraîné qu'une diminution
de $4'$ du pouvoir rotatoire primitif.

*L'acétate et le sous-acétate de plomb ammoniacal précipitent donc entièrement le cépha-
laroside de ses solutions aqueuses et celui-ci peut être récupéré sans changement par
décomposition du précipité plombique.*

Recherche des groupes fonctionnels.

On a recherché successivement : les fonctions aldéhyde, cétone, acide, lactone,
l'oxhydrile phénolique, le groupe méthoxyle et les doubles liaisons.

Fonction aldéhydique ou cétonique.

Le réactif de SCHIFF ne produit sur la solution aqueuse de céphalaroside qu'une coloration violacée très fugace. On n'obtient aucune coloration avec le réactif de LEGAL au nitro-prussiate de sodium.

Le réactif de NESSLER en milieu alcalin produit un précipité jaune disparaissant par addition d'HCl 1/4. La liqueur de FEHLING n'est pas réduite à l'ébullition, mais il se forme après refroidissement et repos du mélange un très léger dépôt d'oxydure cuivreux.

Avec le réactif de TOLLENS au nitrate d'argent ammoniacal on observe à froid, après quelques heures, une réduction et un dépôt d'argent métallique. Cette réaction et la précédente ne sont pas spécifiques des aldéhydes, elles se produisent aussi avec les lactones non saturées, par exemple avec les génines des hétérosides cardiotoniques (JACOBS (53)), certains hétérosides à noyau coumarinique, tel que la « cichorine » (MERZ (63)), et d'autres non sériés, comme le gentiopicroside, (ASAHINA (2)). Le réactif au sulfate mercurique ne fournit aucune coloration. L'addition à la solution aqueuse d'hétéroside de quelques gouttes de sol. de carbonate de sodium et de réactif de LUGOL jusqu'à coloration jaune, ne développe par chauffage aucun précipité, et on ne peut percevoir l'odeur d'iodoforme.

D'autre part, le réactif phénylhydrazinique n'entraîne que la formation d'un trouble léger. Après séjour à la glacière, il ne se forme qu'un léger dépôt rouge amorphe.

Toutes ces réactions semblent indiquer l'absence de fonction aldéhydique ou cétonique dans la molécule du céphalaroside.

Fonction acide.

Le céphalaroside ne fait pas effervescence avec la solution de bicarbonate de soude. Ce n'est donc pas un acide organique.

Fonction lactone.

On a vu que le céphalaroside se dissout dans les solutions alcalines en donnant une coloration jaune, avec perte totale de l'amertume. Il se comporte donc comme une lactone. On sait en effet que les alcalis ouvrent l'anneau lactonique en fournissant des sels jaunes. On a donc recherché la quantité d'alcali fixée par la substance, à l'aide de la soude et de la magnésie.

a) Fixation de NaOH N/10.

Dans une série de fioles d'Erlenmeyer, on répartit une même solution de 0 gr. 10 de céphalaroside dans 15 cm³ d'alcool à 50° et on ajoute dans chaque fiole 10 cm³ de NaOH N/10. Une première série est laissée à la température du laboratoire. La seconde série est portée au B. M. bouillant. A intervalles déterminés, on titre l'excès de soude par SO⁴H² N/10, et on calcule le nombre de cm³ de NaOH N/10 fixée par la substance.

A froid	Temps écoulé en heures.	1	2	4	8	24	48
	Nombre de cm ³ NaOH N/10 fixée.	1,1	1,4	1,9	2,2	2,5	2,7
A chaud	Temps écoulé en heures.	1	2	3	4	5	
	Nombre de cm ³ NaOH N/10 fixée.	2,7	3,5	5,5	5,5	5,5	

La fixation de soude est donc terminée en 48 heures à froid, avec consommation de 2 cm³ 7 de NaOH N/10 pour 0 gr. 10 de substance. Le même chiffre est atteint en une heure au B. M. bouillant. Si on prolonge le chauffage, la consommation de soude est plus élevée, mais le liquide devient de plus en plus coloré.

La solution du céphalaroside ainsi salifié n'est plus amère. Examinée au polarimètre, elle présente à peu de choses près le même pouvoir rotatoire que la solution initiale.

b) Fixation de la magnésie.

La méthode utilisée pour rechercher la quantité de magnésie fixée par la substance m'a été signalée par R. PARIS. Elle est décrite en détail dans la thèse de M^{me} MOYSE-MIGNON (65) qui l'a utilisée avec succès pour l'étude des principes amers du Cail-Cédrin.

0 gr. 10 de céphalaroside ont été dissous dans 40 cm³ d'alcool à 50°, et la solution, additionnée de 0 gr. 50 de magnésie calcinée, a été chauffée deux heures au B. M. bouillant à reflux, en même temps qu'un témoin sans substance amère. On a filtré après refroidissement. Le filtre a été lavé à l'alcool et le filtrat concentré au B. M. à 2-3 cm³. On a ajouté 5 cm³ d'eau distillée, puis 2 cm³ d'HCl concentré qui décompose la combinaison magnésienne. On a filtré de nouveau et ajouté au filtrat 10 cm³ d'ammoniaque pure et 10 cm³ d'une solution à 1/10 de phosphate disodique. Le phosphate ammoniaco-magnésien précipité a été recueilli après 24 heures sur filtre sans cendres, séché à l'étuve et calciné dans un creuset de silice taré. Du poids de pyrophosphate de magnésium obtenu, on déduit par le calcul la quantité de MgO fixée par la substance, en multipliant par le coefficient 0,362, et on déduit du chiffre obtenu la quantité de MgO retenue par le témoin.

	POIDS DE PYROPH.	MgO FIXÉE
Résultats obtenus : Témoin.	0 gr. 0005	—
Céphalaroside.	0 gr. 0150	0 gr. 00525

Le céphalaroside a donc fixé 0 gr. 00525 de MgO pour 0 gr. 10, soit 5,25 de MgO pour 100 grammes.

Ces deux essais permettent de conclure à la fixation d'un équivalent d'alcali par molécule de céphalaroside, et prouvent en même temps l'existence d'un groupe lactonique dans cette molécule.

Oxydrile phénolique.

La solution aqueuse de céphalaroside ne se colore pas par le chlorure ferrique. Le réactif de MILLON ne lui communique qu'une coloration jaune à chaud.

Avec une goutte de chlorure ferrique dilué et une goutte d'HCl ajoutées à sa solution aqueuse en présence d'un cristal de ferricyanure de potassium, on n'observe pas de précipité bleu.

Le réactif de LIEBERMANN (SO⁴H² et nitrite de sodium) et le réactif sulfo-formolé n'entraînent aucune coloration.

Avec l'anhydride phtalique en présence d'acide sulfurique, chauffage, puis addition après refroidissement de 10 cm³ d'ammoniaque au 1/10, on n'observe aucune coloration ni fluorescence appréciables.

L'addition d'ammoniaque à la solution sulfurique du produit ne fournit pas de fluorescence.

Une suspension de quelques milligrammes d'hétéroside dans 2 cm³ de chloroforme et une goutte d'alcool à 90°, est additionnée d'une pastille de potasse. Après une heure de contact, il n'y a aucune coloration de la pastille ni de la solution.

L'ensemble de ces réactions permet de conclure à l'absence d'oxydrile phénolique libre dans la molécule du céphalaroside.

Groupe méthoxyle.

J'ai suivi pour cette détermination la méthode de VIEBOCK et BRECHER (39) qui repose sur l'ioduration du groupe méthoxy par l'acide iodhydrique à 135°-140° et sur la captation de l'iode de méthyle formé par une solution acéto-acétique de brome, qui le transforme en bromure d'iode puis en acide iodique. L'excès de brome est détruit par addition d'acide formique pur. On réduit alors l'acide iodique en iode par une solution d'iode de potassium en présence d'acide sulfurique dilué, et on titre l'iode libéré par une solution titrée de thiosulfate de sodium N/50, en opérant par comparaison avec un témoin sans substance. Dans ces conditions, une molécule d'iode de méthyle entraîné correspond à six atomes d'iode libéré. La technique détaillée de cette méthode est exposée dans l'ouvrage de FRIEDRICH (39).

Avec une prise d'essai de 10 mgr. de céphalaroside, il a fallu 7 cm³ 9 de solution de thiosulfate de sodium N/50, ce qui correspond après correction à 7,70 % de méthoxy.

Dans une seconde expérience, avec une nouvelle prise d'essai de 10 mgr., le chiffre de solution d'hyposulfite de sodium trouvé était de 8 cm³ 42, correspondant, après correction, à 8,71 % de méthoxy. L'indice de méthoxy est donc en moyenne de 8,20 %.

Ces chiffres indiquent que la molécule de céphalaroside renferme un groupe méthoxy.

Doubles liaisons.

1° Si l'on ajoute goutte à goutte une solution étendue de permanganate de potassium à une solution aqueuse de céphalaroside dans l'eau bicarbonatée à 2 %, on observe tout d'abord une décoloration, puis la solution se trouble et il se forme un léger précipité brun (réaction de BAYER).

2° La solution du produit dans l'acide acétique ne décolore pas la solution acétique de brome.

3° En suspension dans le tétrachlorure de carbone, le céphalaroside ne décolore pas la solution de brome dans ce solvant.

4° Le tétranitrométhane ne communique aucune coloration à la suspension de céphalaroside dans le chloroforme.

Ces trois dernières réactions semblent prouver que le céphalaroside se comporte comme un corps saturé. La réduction du permanganate de potassium se produit aussi avec d'autres hétérosides saturés, tels que le loganoside (MERZ (64)).

Essai d'obtention d'un dérivé acétylé.

Un gramme de céphalaroside a été mis en présence de 10 cm³ d'anhydride acétique et de 1 gr.40 d'acétate de sodium dans un ballon à acétylation. Le mélange a été maintenu au B. M. bouillant durant 10 heures au réfrigérant à reflux. Après refroidissement on a ajouté 200 cm³ d'eau, on a porté au B. M. bouillant quelques minutes, puis on a laissé le mélange 24 heures à la glacière. On a ensuite épuisé le liquide à l'éther. La solution étherée, lavée avec une solution de carbonate de sodium à 1 %, puis à l'eau distillée, a été séchée sur sulfate de sodium sec et évaporée. Le résidu a été repris par l'alcool à 95° bouillant et la solution évaporée au vide sulfurique.

On a obtenu dans ces conditions un produit blanc, d'apparence micro-cristalline, de saveur amère, soluble dans l'eau, l'alcool, l'acétone, l'acide acétique et l'éther.

Au bloc MAQUENNE, ce dérivé acétylé se ramollit vers 100-105° et fond vers 115°-120°. Dissous dans l'alcool absolu, il présente un pouvoir rotatoire absolu de — 101°20.

Indice d'acétyle.

La détermination de l'indice d'acétyle a été effectuée en milieu pyridiné, suivant la méthode de DELABY et SABETAY (34).

Dans un ballon à acétylation, on a introduit 0 gr.20 de céphalaroside et 2 cm³ de réactif acétylant (une partie d'anhydride acétique, plus deux parties de pyridine anhydre), et porté le mélange au B. M. bouillant à reflux. Au bout d'une heure, on a ajouté 5 cm³ d'eau et on a titré l'anhydride acétique non combiné par NaOH alcoolique N/2 en présence de phénolphtaléine, en opérant simultanément sur un témoin sans hétéroside.

L'indice d'acétyle trouvé a été de 670, soit une teneur d'environ 19 % en OH acétylable pour 100 grammes de produit.

Ce résultat indique la formation d'un dérivé tétra ou penta-acétylé, si l'on admet comme poids moléculaire le chiffre de 376.

CHAPITRE III

HYDROLYSE ACIDE DU CÉPHALAROSIDE

I. — TECHNIQUE

L'hydrolyse acide a été conduite avec de l'acide sulfurique à 3 %. On a fait trois essais successifs, les deux premiers à 100°, le troisième à l'autoclave à 105°.

L'hétéroside est dissous à l'aide de la solution aqueuse de SO^4H^2 à 3 % et la solution mise en ampoules scellées après lecture de la déviation initiale et vérification de l'absence de pouvoir réducteur sur la liqueur de Fehling.

Première expérience :

Une solution de 0 gr.192 de céphalaroside dans SO^4H^2 à 3 %, ajustée à 50 cm³, a été chauffée 3 heures à 100° en ampoule scellée. Au bout de ce temps, le liquide jaunît légèrement et à l'ouverture de l'ampoule on perçoit une odeur aromatique.

	DÉVIATION 1 = 2	RÉDUCTEUR EN GLUCOSE POUR 100 cm ³
Au départ	— 48'	0
Après 3 heures à 100°.	— 6'	0 gr. 160

Soit un pourcentage de 41,66 % de réducteur calculé en glucose, et un indice de réduction de 228.

Deuxième expérience :

Une solution identique a été chauffée 6 heures à 100° en ampoule scellée. Le liquide d'hydrolyse prend une coloration jaune plus accentuée et présente en suspension un précipité granuleux jaunâtre.

	DÉVIATION 1 = 2	RÉDUCTEUR EN GLUCOSE pour 100 cm ³
Au départ	— 48'	0
Après 6 heures.	— 6'	0 gr. 188

Soit un pourcentage de 49 % de réducteur calculé en glucose et un indice de réduction de 209.

Troisième expérience :

Une solution de 1 gr. 846 de substance dans SO^4H^2 à 3 %, ajustée à 200 cm^3 , a été mise en ampoules scellées et portée 3 heures à l'autoclave à 105°. Après refroidissement et ouverture des ampoules, on perçoit une forte odeur aromatique et le liquide jaune clair présente en suspension un précipité granuleux brunâtre.

	DÉVIATION l = 2	RÉDUCTEUR EN GLUCOSE pour 100 cm^3
	—	—
Au départ	— 1°58'	0
Après 3 heures à 105°.	+ 22'	0 gr. 450

Soit un pourcentage de 48,6 % calculé en glucose, et un indice de réduction de 192.

Après agitation avec l'éther pour enlever l'aglycone libéré, le liquide d'hydrolyse filtré conserve le même pouvoir rotatoire et fournit la même quantité de réducteur. D'autre part, l'addition à ce liquide d'acétate de plomb ammoniacal, pour enlever l'hétéroside qui aurait résisté à l'hydrolyse, ne modifie pas les chiffres obtenus.

L'hydrolyse acide paraît donc terminée après 3 heures de chauffage à 105°, mais il faut 6 heures de chauffage à 100° pour arriver au même résultat.

II. — NATURE DES PRODUITS D'HYDROLYSE ACIDE

Le liquide d'hydrolyse est agité à plusieurs reprises avec de l'éther pour enlever l'aglycone. Cette solution étherée a été traitée à part.

La solution aqueuse restante est neutralisée par le carbonate de baryum et décolorée avec une pincée de charbon activé. Le liquide filtré est distillé dans le vide puis évaporé à sec pour la caractérisation du sucre libéré par l'hydrolyse.

Sucre d'hydrolyse acide.

L'extrait sec résultant de cette opération est repris par 1 cm^3 d'eau distillée au B. M. bouillant et la solution additionnée de 20 cm^3 d'alcool absolu dans un ballon au réfrigérant à reflux. La liqueur, filtrée bouillante, est amorcée après refroidissement avec un cristal de glucose *d*. La cristallisation ne se produisant pas, on a évaporé la solution. Le résidu, pesant 0 gr. 695, a été redissous dans l'eau et la solution, ajustée à 25 cm^3 , a été soumise aux essais suivants :

Pouvoir rotatoire.

Examinée au polarimètre ($l = 2$) après addition d'ammoniaque diluée, elle a présenté une déviation de + 2°54', ce qui donne un pouvoir rotatoire absolu de :

$$[\alpha]_D^{15} = + 52^{\circ}15 \quad (p = 0 \text{ gr. } 695 \quad v = 25 \text{ cm}^3 \quad l = 2 \quad \alpha = + 2^{\circ}9).$$

Le pouvoir rotatoire du glucose pur est de + 52°50.

Pouvoir réducteur.

Sur 5 cm³ de cette solution, dilués à 1/5, on a dosé le réducteur par la méthode de G. BERTRAND. En rapportant les résultats à la totalité de la solution, on a obtenu 0 gr. 690 de réducteur pour 0 gr. 695 de résidu.

Osazone.

5 cm³ de solution, dilués à 1/5, traités au B. M. bouillant durant 30 minutes par 20 gouttes de phénylhydrazine et 10 gouttes d'acide acétique en présence d'acétate de sodium, ont laissé cristalliser à chaud une osazone qui, vue au microscope, s'est montrée formée de houppes étoilées et de branches de genêt caractéristiques de la glucosazone.

Cette osazone, recueillie sur filtre, lavée à l'alcool méthylique, puis séchée à 45°, fond au bloc MAQUENNE à + 225° (point de fusion instantané). En mélange avec la glucosazone elle fond à + 226°. Le point de fusion de la glucosazone pure est de + 229°.

Ces essais permettent de conclure que le sucre libéré par l'hydrolyse acide du céphalarioside est bien du glucose *d*.

Essai de caractérisation de l'aglycone.

La solution étherée résultant de l'agitation de la liqueur d'hydrolyse est jaune. Elle est desséchée sur sulfate de sodium sec et évaporée à l'air. On obtient un résidu jaune, résineux, pesant 0 gr. 376. Repris par différents solvants (alcool absolu, chloroforme, acide acétique), il est resté incristallisable malgré les essais effectués dans diverses conditions (évaporation lente, refroidissement à la glacière, etc.).

Après acétylation et saponification du dérivé acétylé, on obtient un produit blanc jaunâtre, d'apparence microcristalline, inodore, de saveur amère, très peu soluble dans l'eau, soluble dans l'alcool, l'éther, le chloroforme et l'acétone, insoluble dans l'éther de pétrole.

Au bloc MAQUENNE, le produit se ramollit vers 100° et fond au voisinage de 115° (point de fusion instantané).

En solution à 1 % dans l'alcool absolu, il présente un pouvoir rotatoire inconstant, sans doute en raison d'une racémisation produite en cours d'extraction.

Propriétés chimiques.

La plupart des propriétés chimiques qui ont pu être étudiées rappellent celle du céphalarioside lui-même. Faute de substance, j'ai dû me limiter à un nombre restreint de réactions.

Réactions colorées.

L'acide sulfurique pur ou additionné de métavanadate d'ammonium lui communique une coloration brun rouge.

L'acide nitrique ne donne aucune coloration. Sur le résidu d'évaporation au B. M., l'ammoniaque produit une coloration orangée.

L'aglycone se dissout dans les lessives alcalines avec coloration jaune. L'ammoniaque ne produit rien.

Avec le réactif chlorhydro-vanillique, on obtient au B. M. une coloration lilacée après addition d'acide acétique.

Recherche des groupes fonctionnels.

Fonction aldéhyde ou cétone.

On n'obtient aucune coloration appréciable avec le réactif de SCHIFF et le réactif de LEGAL. Le réactif de NESSLER en milieu alcalin donne un précipité jaune non persistant par addition d'HCl au 1/4.

La liqueur de FEHLING n'est réduite ni à l'ébullition ni après refroidissement. Le nitrate d'argent ammoniacal est réduit après quelques heures avec dépôt d'argent métallique. On a vu que cette réaction se produit aussi avec les lactones non saturées.

La réaction au sulfate mercurique et celle de l'iodoforme sont toutes deux négatives.

Il semble donc que l'aglycone ne renferme ni fonction aldéhydique, ni fonction cétonique.

Fonction acide.

L'aglycone ne se dissout pas dans la solution de bicarbonate de sodium. Il est neutre à la phtaléine. Ce n'est pas un acide organique.

Fonction lactone (ou olide).

Comme l'hétéroside dont il provient, l'aglycone se dissout dans les solutions alcalines, en présence d'alcool, avec coloration jaune. Il donne une coloration orangée avec le réactif de BALGÉ au picrate de sodium. Il possède donc un groupe lactonique.

Après contact de 24 heures avec un excès de NaOH N/10 en solution alcoolique, suivant la technique décrite plus haut (v. p. 79), 0 gr. 10 de l'aglycone ont consommé environ 5 cm³ 4 de NaOH N/10, chiffre double de celui qu'avait fixé la même quantité d'hétéroside, ce qui donne une indication sur sa grandeur moléculaire (environ 214) et confirme la proportion d'aglycone libéré par l'hydrolyse, soit environ 50 %.

Indice d'acétyle.

Par la méthode de DELABY et SABETAY, déjà décrite (p. 82) on a obtenu pour l'aglycone un indice d'acétyle de 373, ce qui correspond à une teneur d'environ 9,55 % en OH acétylable.

Doubles liaisons.

Une solution acétonique étendue de permanganate de potassium, ajoutée à la solution acétonique de l'aglycone, se décolore dès les premières gouttes de l'affusion, puis on observe un léger précipité brun.

En solution acétique, l'aglycone ne décolore que très lentement la solution acétique de brome. Sa solution dans le tétrachlorure de carbone ne décolore pas davantage la solution de Br dans ce même solvant.

Enfin, le tétranitrométhane ne communique aucune coloration à la solution chloroformique de l'aglycone.

Comme l'hétéroside dont il provient, l'aglycone semble donc se comporter vis-à-vis du brome à la manière d'un composé saturé. La réduction du permanganate de potassium est peut-être due à une destruction partielle du groupe prosthétique, comme MERZ l'a signalé pour la loganétine (64).

La recherche des autres groupes fonctionnels, OH phénolique et O-CH³ tout particulièrement, ainsi que d'autres essais, tels que la fusion alcaline, qui auraient pu fournir quelques éclaircissements sur la nature et la constitution du groupe prosthétique, n'ont pas pu être entrepris, faute d'une quantité suffisante d'aglycone. Ces recherches seront reprises ultérieurement.

Conclusion.

On peut déjà conclure toutefois que l'aglycone provenant de l'hydrolyse sulfurique du céphalaroside présente deux groupes fonctionnels bien déterminés :

- 1° Un groupe lactonique s'ouvrant sous l'action des alcalis.
- 2° Au moins un oxhydrile acétylable.

La présence d'un groupe méthoxy est probable. L'aglycone se comporte comme un composé saturé.

III. — HYPOTHÈSES SUR LA CONSTITUTION DU CÉPHALAROSIDE

Le céphalaroside est un hétéroside amer, lévogyre, de formule C¹⁶ H²⁴ O¹⁰, non réducteur pour la liqueur de FEHLING, sans doubles liaisons décelables par le brome. Il possède un groupe méthoxyle et une fonction lactone ou olide qui se retrouve dans l'aglycone après hydrolyse acide ou fermentaire.

En l'absence de données précises sur la nature de cet aglycone, on ne peut encore formuler que des hypothèses sur sa constitution et établir que des rapprochements avec des hétérosides analogues.

D'après l'ensemble de ses propriétés physico-chimiques, le céphalaroside paraît avoir de grandes similitudes avec le méliatoside ou loganoside étudié par BRIDEL (16), puis par MERZ et KREBS (64).

Il présente en effet les mêmes caractères de solubilité et les mêmes anomalies cryoscopiques que ce dernier hétéroside.

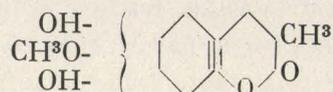
A l'égal du méliatoside, il ne fixe pas le brome, ne réduit pas la liqueur de FEHLING, ne se colore pas par le chlorure ferrique et ne possède pas de fonction phénol libre. Il possède, lui aussi, un groupe méthoxy et un anneau lactonique s'ouvrant sous

l'action des alcalis en fournissant des sels jaunes dépourvus d'amertume. Comme lui également, il fournit un dérivé tétra ou penta-acétylé.

Son hydrolyse fournit de même une molécule de glucose *d* et une molécule d'un aglycone incristallisable à propriétés analogues.

Enfin, son spectre d'absorption en ultra-violet laisse supposer l'existence d'un noyau cyclique dans sa molécule et permet, comme on l'a vu plus haut (voir p. 76), de le rapprocher nettement du méliatoside à ce point de vue.

Or, MERZ et KREBS ont fait remarquer (64) que le spectre d'absorption du loganoside pouvait se superposer à celui du cyclohexène, et, sur cette indication, ils ont proposé pour l'aglycone de cet hétéroside la constitution suivante :



Le céphalaroside présentant un spectre d'absorption presque identique à celui du loganoside, il est donc vraisemblable qu'il possède, lui aussi, un cycle cyclohexénique, qui expliquerait une partie de ses propriétés, notamment sa résistance à la fixation des halogènes et les particularités de son aglycone. S'il en est bien ainsi, le céphalaroside aurait une structure très proche de celle du méliatoside, dont il ne diffère d'ailleurs dans sa formule globale ($\text{C}^{16}\text{H}^{24}\text{O}^{10}$) que par un CH^2 en moins.

Avec le méliatoside, et peut-être le gentiopicroside qui en a été rapproché par ASAHINA et SAKMAI (3), peut-être également l'hydroverbénaloside, le céphalaroside ferait ainsi partie d'un groupe particulier de glucosides β , différant, par la saturation partielle de leur noyau, des glucosides coumariniques auxquels on pourrait être tenté tout d'abord de les rattacher en considérant certaines de leurs analogies.

Relations entre le céphalaroside et le scabioside.

Le céphalaroside peut-il d'autre part être identifié au scabioside isolé par BOURQUELOT et BRIDEL (13), puis par WATTIEZ (88-89), de certaines Dipsacées européennes ?

Autant qu'on peut en juger par les rares constantes (pouvoir rotatoire et indice de réduction enzymolytique) fournies par les auteurs précités, l'identité entre ces deux glucosides paraît probable. Toutefois, il aurait fallu pouvoir comparer l'ensemble de leurs propriétés physico-chimiques pour arriver à une conclusion sur ce point.

Les espèces botaniques, et notamment le *Scabiosa succisa* L., d'où j'aurais pu extraire le scabioside, n'existant pas en Orient, il ne m'a pas été possible de faire cette comparaison.

De nouvelles recherches seront donc nécessaires pour établir si toutes les vraies Dipsacées renferment ou non le même hétéroside amer lévogyre.

CHAPITRE IV

HYDROLYSES FERMENTAIRES DU CÉPHALAROSIDE

L'hydrolyse fermentaire du céphalaroside a été réalisée avec les ferments suivants :

Émulsine des amandes.

Poudre fermentaire de graines germées de *Cephalaria syriaca* L. (SCHRAD).

Diastase de *Sterigmatocystis nigra* V. TGH.

Poudre fermentaire de *St. nigra* V. TGH.

En outre, on a pratiqué différents essais de culture de ce champignon sur la solution du glucoside pure ou additionnée de liquide nutritif minéral, pour se rendre compte de son utilisation éventuelle par les moisissures.

I. — HYDROLYSE PAR L'ÉMULSINE DES AMANDES

L'émulsine utilisée, de préparation récente, a été obtenue suivant le procédé de H. HÉRISSEY (46).

100 cm³ de solution à 1 % de céphalaroside ont été mélangés avec 0 gr. 50 d'émulsine et additionnés de quelques gouttes de toluène, puis mis à l'étuve à 33° en flacon soigneusement bouché. On a procédé à la lecture polarimétrique et au dosage du réducteur à intervalles réguliers jusqu'à fixation des chiffres obtenus, résultat qui est atteint vers le vingtième jour, comme l'indiquent les résultats suivants où l'on peut suivre la marche de l'hydrolyse.

	DÉVIATION	RÉDUCTEUR EN GLUCOSE
	1 = 2	pour 100 cm ³
	—	—
Au départ	— 2°13'	0
Au 7 ^e jour	— 18'	0 gr. 437
Au 15 ^e jour	— 10'	0 gr. 450
Au 20 ^e jour	+ 8'	0 gr. 485
Au 30 ^e jour	+ 8'	0 gr. 484



Le liquide d'hydrolyse prend peu à peu une coloration jaune clair et tient en suspension un précipité granuleux jaunâtre.

Le pourcentage de sucre réducteur obtenu est de 48,40 % ce qui donne un indice de réduction enzymolytique de 204.

Sucre d'hydrolyse par l'émulsine :

Après épuisement par l'éther, le liquide d'hydrolyse a été distillé à sec sous pression réduite puis évaporé au vide. Le résidu a été repris par 1 cm³ d'eau distillée et 20 cm³ d'alcool absolu au B. M. bouillant. Le liquide filtré n'a pas cristallisé sur amorce de glucose *d*, mais son résidu d'évaporation, pesant 0 gr. 380, repris par 20 cm³ d'eau distillée, a présenté comme le sucre d'hydrolyse sulfurique, les caractères du glucose *d*.

Son pouvoir rotatoire, après addition d'ammoniaque diluée, se fixe à + 51°50 ($p = 0$ gr. 380 $v = 20$ cm³ $l = 2$ $\alpha = + 1^{\circ}57'$).

Son pouvoir réducteur, en glucose, déterminé par la méthode de G. BERTRAND, est égal à 0 gr. 371 pour 0 gr. 380 de résidu.

Sa solution aqueuse, traitée au B. M. bouillant durant 30' par 10 gouttes de phénylhydrazine acétique en présence d'acétate de sodium, livre à chaud une osazone cristallisée en branches de genêt. Cette osazone, purifiée par l'alcool méthylique et séchée à 45°, fond instantanément au bloc MAQUENNE à + 224°, chiffre voisin de celui de la glucosazone pure.

On peut donc conclure que le sucre fourni par l'hydrolyse du céphalaroside sous l'action de l'émulsine est du glucose *d*, ce qui confirme la règle énoncée par BOURQUELOR en 1907 concernant les glucosides hydrolysables par l'émulsine : « Tous ceux de ces glucosides actuellement connus sont lévogyres et dérivent du glucose *d* » (11).

Étude sommaire de l'aglycone :

La liqueur éthérée provenant de l'épuisement du liquide d'hydrolyse est légèrement colorée en jaune. Desséchée sur sulfate de sodium sec, puis évaporée à l'air, elle abandonne un résidu jaunâtre, résineux, de saveur légèrement amère, qui, séché au vide sulfurique, se prend en masse semi-cristalline. Après purification par acétylation et saponification du dérivé acétylé, on obtient une poudre cristalline blanc jaunâtre, très peu soluble dans l'eau, soluble dans les mêmes solvants organiques et présentant les mêmes propriétés physiques que l'aglycone provenant de l'hydrolyse acide.

Ses propriétés chimiques sont analogues. Il fournit les mêmes réactions colorées, on y retrouve les mêmes groupes fonctionnels et en particulier la fonction lactonique s'ouvrant sous l'action des alcalis.

L'aglycone de l'hydrolyse émulsine du céphalaroside ne paraît pas différer de l'aglycone obtenu par hydrolyse acide.

Son étude sera reprise ultérieurement.

II. — HYDROLYSE PAR LA POUDRE FERMENTAIRE DE GRAINES GERMÉES DE CEPHALARIA SYRIACA L. (SCHRAD)

Première expérience :

J'ai tout d'abord tenté d'obtenir, à partir des graines sèches de *C. syriaca*, un liquide diastatique capable d'hydrolyser l'hétéroside. Pour cela, une poudre d'akènes délipidée a été mise en

macération sous toluène avec de l'eau distillée, et après 24 heures de contact, le liquide filtré a été essayé sur une solution de céphalarioside à 1 %. Après 30 jours d'étuve à 33°, le pouvoir rotatoire de la solution n'avait pas varié et il n'était apparu que des traces de réducteur.

Les akènes de Céphalaire de Syrie ne renferment donc pas de diastase soluble spécifique du céphalarioside.

Une telle constatation n'est pas nouvelle. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY (14) ont signalé plusieurs fois l'inactivité de certaines macérations aqueuses de poudres végétales pourtant riches en ferments hydrolysants.

Deuxième expérience :

J'ai alors essayé d'utiliser une poudre fermentaire à contact direct préparée suivant la technique de CHEYMOL (23) et employée par lui avec succès à l'hydrolyse de certains hétérosides. Pour cela, une poudre de graines de Céphalaire de Syrie en germination au 4^e jour, a été épuisée de ses principes solubles dans l'alcool à 90° par agitation avec trois fois son volume de ce solvant. Après 24 heures de contact, la poudre a été essorée, puis lixiviée avec 3 vol. d'alcool de même titre. La poudre ainsi épuisée a été séchée à l'air, puis à l'étuve à 37° durant 24 heures.

Ce complexe fermentaire a été mis en contact, à la dose de 1 gr., avec 100 cm³ de solution de glucoside à 1 %, à l'étuve à 33° sous toluène, et le tout a été agité fréquemment. On a effectué des lectures polarimétriques et un dosage du réducteur aux 7^e, 15^e, 30^e et 40^e jour, de la même manière que pour les essais d'hydrolyse par l'émulsine. A partir du 40^e jour, le pouvoir rotatoire et le chiffre du réducteur demeurent stables.

Voici les résultats de cet essai :

	DÉVIATION I = 2	RÉDUCTEUR EN GLUCOSE pour 100 cm ³
Au départ	— 2°13'	0
Au 7 ^e jour	— 18'	0 gr. 400
Au 15 ^e jour	— 10'	0 gr. 420
Au 30 ^e jour	— 7'	0 gr. 435
Au 40 ^e jour	+ 8'	0 gr. 485

Soit une proportion d'environ 48,50 % de réducteur calculé en glucose, et un indice de réduction de 206.

Le liquide d'hydrolyse prend une coloration verte de plus en plus accentuée, avec vive fluorescence vert émeraude. Il tient en suspension le même précipité granuleux que précédemment.

La poudre fermentaire de graines germées de C. syriaca hydrolyse donc activement le céphalarioside.

Troisième expérience :

Un essai parallèle a été fait avec une poudre fermentaire de graines non germées de *C. syriaca*. Il a conduit, après 60 jours de contact avec une solution de glucoside à 1 % à l'obtention de 0 gr. 225 de réducteur et à un retour de déviation de 1°, pour

100 cm³ de solution, ce qui correspond à 22,50 % de sucre réducteur libéré avec un indice de 225.

La poudre fermentaire de graines non germées de C. syriaca n'est donc que faiblement active sur l'hétéroside que ces graines contiennent.

Conclusion :

La germination développe considérablement le pouvoir diastasique des graines de *C. syriaca* vis-à-vis du céphalaroside. La poudre fermentaire de graines en germination libère deux fois plus de glucose que la poudre de graines non germées et autant que l'émulsine des amandes.

L'hydrolyse est plus lente qu'avec ce dernier ferment, vraisemblablement du fait de l'appauvrissement du pouvoir diastasique au cours de la préparation du complexe fermentaire.

III. — HYDROLYSE PAR LA DIASTASE SOLUBLE DE STERIGMATOCYSTIS NIGRA V. TGH.

J'ai préparé un liquide diastasiqne par un procédé inspiré de la technique décrite par BOURQUELOT en 1893 (9).

Une culture de quatre jours bien développée, mais non encore sporulée, de *Sterigmatocystis nigra* V. TGH.ensemencé sur milieu de CZAPEK glucosé à 3 %, a été lavée par siphonnage et macération de quelques heures avec de l'eau distillée, à trois reprises successives, puis mise en contact une dernière fois durant 48 heures avec une nouvelle eau distillée. Ce dernier liquide de macération, soutiré et filtré sur bougie, constitue la solution diastasiqne à essayer.

On s'est assuré au préalable qu'elle n'a ni pouvoir rotatoire appréciable, ni pouvoir réducteur au FEHLING.

0 gr. 40 de céphalaroside ont été dissous dans ce liquide et la solution ajustée à 40 cm³ (solution à 1 %). Elle a été mise à l'étuve à 33° en flacon bouché, sous toluène, jusqu'à ce que le pouvoir rotatoire et le pouvoir réducteur ne varient plus, ce qui est atteint au 45^e jour environ.

Le liquide d'hydrolyse prend peu à peu une coloration jaune pâle et une belle fluorescence vert émeraude.

	DÉVIATION 1 = 2	RÉDUCTEUR EN GLUCOSE pour 100 cm ³
	—	—
Au départ	— 2°13'	0
Au 7 ^e jour	— 2°13'	0
Au 15 ^e jour	— 1°20'	0 gr. 170
Au 30 ^e jour	— 23'	0 gr. 400
Au 45 ^e jour	— 3'	0 gr. 450

Soit une proportion de 45 % de sucre réducteur libéré, et un indice de réduction d'environ 207.

La glucosidase de *St. nigra* V. TGH. a donc une activité un peu plus faible que l'émulsine des amandes sur le céphalaroside, et elle agit avec une moindre rapidité.

IV. — HYDROLYSE PAR LA POUDRE FERMENTAIRE DE STERIGMATOCYSTIS NIGRA V. TGH.

Cette poudre fermentaire a été préparée par un procédé analogue à celui de H. HÉRISSEY et P. FLEURY (50).

Quelques conidies de *St. nigra* V. TGH sont ensemencées aseptiquement sur le milieu de CZAPEK glucosé à 3 %. Après 3 à 4 jours, la culture bien développée, mais non encore sporulée, est lavée à l'eau distillée par siphonnage à 5-6 reprises durant 48 heures. Le mycélium est alors essoré sur BÜCHNER, finement broyé au mortier, puis mis en contact pendant 12 heures avec quatre fois son poids d'alcool à 95°. Après essorage à la trompe, il est finalement séché à l'étuve à 45° et broyé en poudre fine. On a obtenu ainsi environ 1 gr. 50 de poudre fermentaire.

0 gr. 50 de cette poudre fermentaire ont été mélangés à 50 cm³ d'une solution à 1 % de céphaloridine et le liquide additionné de toluène a été porté à l'étuve à 33°. On a arrêté l'hydrolyse dès stabilisation du pouvoir rotatoire et du pouvoir réducteur de la solution déféquée. Ce résultat est atteint vers le 30^e jour.

Dès le 3^e jour, le liquide prend une belle fluorescence vert bleu, puis il se colore progressivement en vert de plus en plus foncé, la teinte obtenue étant tout à fait comparable à celle que présente le liquide d'hydrolyse par la poudre fermentaire de graines germées de Céphalaire de Syrie. Voici la marche de l'hydrolyse :

	DÉVIATION 1 = 2	RÉDUCTEUR EN GLUCOSE pour 100 cm ³
Au départ.	— 2°13'	0
Au 3 ^e jour.	— 1°04'	0 gr. 300
Au 7 ^e jour.	— 32'	0 gr. 350
Au 15 ^e jour.	— 10'	0 gr. 420
Au 20 ^e jour.	— 2'	0 gr. 462
Au 30 ^e jour.	+ 13'	0 gr. 486

Soit une proportion de 48,60 % de sucre réducteur libéré et un indice d'environ 200.

Le chiffre de sucre réducteur libéré rejoint celui de l'hydrolyse acide, les deux indices de réduction étant presque identiques.

Bien qu'agissant avec une lenteur relative, la poudre fermentaire de *Sterigmato-cystis nigra* V. TGH. pousse donc l'hydrolyse plus à fond que les autres préparations diastasiques utilisées dans mes essais.

V. — COMPARAISON DES RÉSULTATS D'HYDROLYSE

Le tableau suivant fait ressortir la différence d'activité de ces préparations quant à la vitesse d'hydrolyse et au pourcentage de réducteur obtenu au terme de cette hydrolyse. L'activité est indiquée par ordre décroissant de vitesse d'hydrolyse :

	TEMPS NÉCESSAIRE POUR ATTEINDRE LE TERME DE L'HYDROLYSE	α FINAL 1 = 2	% RÉDUCTEUR OBTENU EN FIN D'HYDROL.	INDICE
Émulsine des amandes	20 jours	+ 8'	48,40	204
Poudre fermentaire de <i>St. nigra</i> V. TGH.	30 jours	+ 13'	48,60	200
P. fermentaire de gr. germées de <i>C. syriaca</i> L.	40 jours	+ 8'	48,50	206
Diastase de <i>St. nigra</i> V. TGH. P. fermentaire de gr. non ger- mées de <i>C. syriaca</i> L.	45 jours	— 3'	45	207
	60 jours	— 1°13'	22,5	225

BU
LILLE

On voit que la valeur de l'indice de réduction enzymolytique est ici fonction du pourcentage de réducteur obtenu en fin d'hydrolyse, ou, ce qui revient au même, qu'il est fonction de l'activité hydrolytique du complexe diastasiq ue utilisé. L'indice s'élève à mesure que cette activité devient plus faible. Il est curieux de constater que les chiffres obtenus pour l'indice de réduction des extraits de plantes fraîches, au cours de mes essais biochimiques, varient précisément entre ces valeurs extrêmes, nouvelle confirmation, me semble-t-il, de la présence dans ces extraits de l'hétéroside spéci-
fique.

CHAPITRE IV

ESSAIS DE CULTURE DU *STERIGMATOCYSTIS NIGRA* V. TGH. SUR LES SOLUTIONS DE CÉPHALAROSIDE. UTILISATION DU CÉPHALAROSIDE PAR LES MOISSURES

L'activité fermentaire de *St. nigra* V. TGH. s'étant montrée très forte vis-à-vis du céphalaroside, c'est ce champignon qui a été choisi pour les essais de culture entrepris en vue de se rendre compte de l'utilisation de cet hétéroside par les moisissures.

I. — ESSAI DE CULTURE DU *STERIGMATOCYSTIS NIGRA* V. TGH. SUR UNE SIMPLE SOLUTION AQUEUSE DE CÉPHALAROSIDE

Quelques conidies de *St. nigra* ont étéensemencées aseptiquement sur une solution aqueuse à 1 % de céphalaroside, préalablement stérilisée par tyndallisation à 100°. La solutionensemencée a été portée à l'étuve à 33°.

Après quatre jours, le milieu paraît encore vierge. Le mycélium n'apparaît ensuite qu'avec une extrême lenteur, et au bout de trois semaines il ne forme encore à la surface du liquide qu'un feutrage très lâche.

Visiblement, la culture souffre du manque d'ions minéraux, car si l'on ajoute à 50 cm³ de liquideensemencé un égal volume de milieu de CZAPEK non sucré, en 24 heures il se produit une poussée intense et en trois jours le mycélium commence à sporuler. On procède à des lectures polarimétriques et au dosage du réducteur jusqu'à stabilisation des chiffres. Ce résultat est atteint le quinzième jour après l'introduction du liquide de CZAPEK.

	DÉVIATION 1 = 2	RÉDUCTEUR EN GLUCOSE pour 100 cm ³
Au départ.	— 2°13'	0
Au 21 ^e jour, sans CZAPEK.	— 2°	0
Au 21 ^e jour, avec CZAPEK (égal vol.).	— 1°	0
Au 22 ^e jour, avec CZAPEK (égal vol.).	— 40'	0 gr. 0375
Au 26 ^e jour —	— 30'	0
Au 36 ^e jour —	0	0

Le *Sterigmatocystis nigra* V. TGH. utilise donc bien pour sa nutrition le sucre réducteur libéré par ses ferments.

Au début de la poussée mycélienne, l'hydrolyse est tellement rapide qu'une petite quantité de sucre réducteur apparaît dans le milieu, mais ce sucre ne tarde pas à être consommé par la moisissure et, jusqu'à la fin de l'hydrolyse, on ne trouve plus ensuite que des traces indosables de réducteur, cependant que le pouvoir rotatoire du liquide tombe à 0, preuve que la totalité du céphalaroside a été hydrolysée par la moisissure au cours de son développement.

II. — ESSAIS DE CULTURE DU STERIGMATOCYSTIS NIGRA V. TGH. SUR DES MILIEUX NUTRITIFS ENRICHIS EN CÉPHALAROSIDE, EN MILIEU NEUTRE OU ACIDE

L'expérience précédente ayant été concluante, on a procédé à différents essais de culture sur solution nutritive minérale, enrichie en hétéroside, en milieu neutre ou acide, en procédant par comparaison avec des milieux identiques où le céphalaroside était remplacé par une quantité de glucose correspondant à celle que libère l'hydrolyse diastasique de cette substance.

Technique :

La technique utilisée pour ces essais est à peu de choses près celle qu'ont suivie H. HÉRISSEY et LEBAS (49) pour étudier l'utilisation de l'aucuboside par le *St. nigra*, puis CHEYMOL (24) dans ses recherches relatives à l'action du verbénaloside sur les moisissures. Ces auteurs se servaient comme milieu de culture du liquide de RAULIN saccharosé ou non. Ayant l'habitude d'utiliser avec succès le milieu de CZAPEK-DOX¹ pour les cultures d'Ascomycètes saprophytes, en particulier pour celle du *Penicillium notatum* WEST., j'ai préféré conduire mes essais sur ce milieu, qui m'a donné d'aussi bons résultats que le liquide de RAULIN. J'ai remplacé en outre le saccharose par le glucose, pour pouvoir comparer plus sûrement l'utilisation de ce sucre avec celui que fournit le céphalaroside par hydrolyse.

Le milieu de CZAPEK-DOX sucré étant à 3 % de glucose et le céphalaroside libérant approximativement 50 % de son poids de ce même sucre par hydrolyse, la solution d'hétéroside dans le liquide nutritif non sucré a été faite dans toutes mes expériences à la concentration de 6 %. Dans les essais en milieu acide on additionnait la solution d'acide tartrique à la dose de 0 gr. 25 pour 100 cm³ de liquide. Dans les essais en milieu neutre, l'acide tartrique était remplacé par une quantité équivalente de tartrate neutre de potassium, soit environ 0 gr. 40 pour 100 cm³.

1. La composition du milieu de CZAPEK-DOX est la suivante :

Nitrate de sodium : 3 gr., Phosphate monopotassique : 1 gr., Chlorure de potassium : 0 gr. 50. Sulfate de magnésium crist. : 0 gr. 50, Sulfate ferreux crist. : 0 gr. 01, Glucose : 30 grs., Eau : qs, pour 1.000 cm³.

Avec chaque milieu, acide ou neutre, on préparait trois solutions de 20 cm³ chacune, la première renfermant 3 % de glucose, la seconde et la troisième renfermant 6 % d'hétéroside sans glucose. Ces solutions étaient réparties sous une épaisseur de 1 à 2 cm. dans des fioles à fond plat appropriées (matras ou fioles d'ERLENMEYER) contenant un volume d'air suffisant pour entretenir la respiration de la culture, et les fioles étaient bouchées soigneusement.

Les milieux étant préalablement stérilisés par tyndallisation à 100°, onensemait les deux premières fioles de chaque série avec 0 cm³ 35 de suspension de conidies de *St. nigra* dans l'eau distillée stérile, à l'aide d'une pipette aseptisée, la troisième fiole, nonensemencée, servant de témoin.

Les fioles étaient alors portées à l'étuve à 33° et les prélèvements effectués au 15^e jour du développement, pour la lecture polarimétrique et le dosage du réducteur, après neutralisation par le carbonate de calcium pour les solutions acides.

Le mycélium de chaque fioleensemencée était recueilli avec précaution sur filtre taré, lavé avec 100 cm³ d'eau distillée, pesé, essoré à l'état frais, puis maintenu à l'étuve à 33° jusqu'à poids constant, et finalement pesé à l'état sec.

I. — Essais de culture sur solution nutritive acide.

Après quinze jours de développement, le mycélium de la première fiole était dense et bien fructifié. Celui de la seconde fiole, contenant l'hétéroside, était plus grêle, mais également fructifié. La troisième fiole ne montrait aucune trace de culture.

Les poids des mycéliums récoltés ont été les suivants :

	CONIDIES	POIDS FRAIS en gr.	POIDS SEC en gr.
Culture n° 1 (CZAPEK glucosé).....	+	0,620	0,168
Culture n° 2 (CZAPEK + hétéroside).....	+	0,612	0,162
Témoin nonensemencé.....	0	—	—

Le mycélium se développe donc bien sur solution d'hétéroside en milieu nutritif acide, moins vite toutefois et moins richement que sur solution glucosée d'égale concentration en sucre.

Voici d'autre part les résultats des examens pratiqués sur les liquides de culture :

	DÉVIATION 1 = 2		RÉDUCTEUR EN GLUCOSE %	
	au départ	au 15 ^e jour	au départ	au 15 ^e jour
Culture n° 1 (CZAPEK glucosé).....	+ 3°20'	0	0,300	0
Culture n° 2 (CZAPEK + hétéroside).....	— 12°48'	— 1°	0	0
Témoin nonensemencé.....	— 12°48'	— 12°48'	0	0

Ces résultats confirment les observations faites sur le développement mycélien. L'utilisation du glucose est totale. Celle du céphalaroside est incomplète, bien que le sucre réducteur libéré par l'hydrolyse diastasique ait été entièrement consommé par le champignon. Le pouvoir rotatoire reste encore à -1° . Il semble donc qu'à la concentration de 6 %, l'hétéroside ne puisse pas être utilisé aussi vite que le glucose à concentration égale en sucre, malgré l'acidité du milieu.

L'aglycone aurait-il une influence retardatrice sur le développement ? Il ne semble pas qu'il en soit ainsi, car il suffit d'abaisser la concentration de l'hétéroside à 1 ou 2 % pour que la vitesse d'hydrolyse devienne égale à celle de la solution glucosée. En réalité, comme on l'a vu à l'étude de l'hydrolyse fermentaire, l'hétéroside est relativement résistant à l'hydrolyse par la poudre fermentaire de *St. nigra*, et plus encore à l'hydrolyse par la glucosidase soluble de cette moisissure. Il ne faut pas moins de trente jours pour qu'elle soit complète avec la poudre fermentaire. Si on prolonge jusqu'à trente jours la durée du contact de la solution d'hétéroside à 6 % avec la moisissure, l'hétéroside est entièrement hydrolysé.

II. — Essais de culture sur solution nutritive neutre.

Après quinze jours d'étuve, le témoin ne présentait pas trace de mycélium. La culture n° 1 (sur CZAPEK glucosé) renfermait un mycélium de même apparence qu'en milieu acide. Dans la culture n° 2 (CZAPEK + hétéroside), le mycélium s'était mieux développé qu'en milieu acide, et il était recouvert de conidies.

Ces mycéliums ont donné les poids suivants :

	CONIDIES	POIDS FRAIS en gr.	POIDS SEC en gr.
Culture n° 1 (CZAPEK glucosé)	+	0,690	0,198
Culture n° 2 (CZAPEK + hétéroside)	+	0,682	0,196
Témoin	0	—	—

Les cultures sont donc plus riches en milieu neutre qu'en milieu acide, le poids du mycélium a augmenté d'environ 16 %.

Les résultats de l'hydrolyse sont donnés par le tableau suivant :

	DÉVIATION 1 = 2		RÉDUCTEUR EN GLUCOSE %	
	au départ	au 15 ^e jour	au départ	au 15 ^e jour
Culture n° 1 (CZAPEK glucosé)	+ 3°12'	0	0,300	0
Culture n° 2 (CZAPEK + hétéroside)	— 12°40'	— 20'	0	0
Témoin	— 12°40'	— 12°40'	0	0

Ici encore, on constate que l'hydrolyse de l'hétéroside a été un peu plus poussée en milieu neutre qu'en milieu acide, comme en fait foi le retour plus accusé de la déviation vers la droite. La moisissure a consommé tout le sucre réducteur libéré par l'hydrolyse et le poids du mycélium sec est presque égal à celui de la culture sur milieu glucosé, ce qui confirme l'utilisation de la fraction glucidique par le champignon.

Par contre, on retrouve la fraction aglyconique dans le résidu de l'épuisement à l'éther, sous forme d'une substance résineuse jaunâtre, comme dans l'hydrolyse par la poudre fermentaire de *S. nigra*. L'aglycone ne paraît donc pas avoir d'influence sur le développement, probablement en raison de son insolubilité dans l'eau.

CONCLUSIONS

Le mycélium de *Sterigmatocystis nigra* V. TGH. se développe aisément sur les solutions nutritives minérales additionnées de céphalaroside, en milieu neutre comme en milieu acide. La moisissure consomme entièrement le glucose libéré par l'hydrolyse diastasique. Elle ne paraît pas utiliser l'aglycone, qu'on retrouve dans le liquide d'épuisement à l'éther.

Le céphalaroside peut donc être considéré comme un aliment accessoire des moisissures, au même titre que d'autres hétérosides, comme l'aucuboside (49) ou le verbénalósíde (24).



TROISIÈME PARTIE

LES HÉTÉROSIDES DES AUTRES DIPSACÉES. CHIMISME ET CLASSIFICATION CHEZ LES DIPSACÉES

CHAPITRE PREMIER

RECHERCHE ET EXTRACTION ÉVENTUELLE DE L'HÉTÉROSIDE DANS QUELQUES ESPÈCES DE DIPSACÉES ASIATIQUES ET EUROPÉENNES

Pour compléter les essais biochimiques exposés précédemment, on a étendu les investigations à l'ensemble de la famille des Dipsacées, tant européennes qu'asiatiques.

L'hétéroside lévogyre à saveur amère s'étant montré jusqu'ici un véritable principe spécifique des Dipsacées, on en a recherché systématiquement la présence dans un certain nombre d'espèces de différentes provenances.

A l'exception du genre *Pycnocomon*, dont le seul représentant connu, *Pycnocomon rutioefolium* HFFG. et L. K., n'a pas pu être trouvé, tous les genres de Dipsacées actuellement admis ont été explorés, le plus souvent à l'aide de plusieurs espèces. Cet inventaire a porté sur :

7 espèces du genre	<i>Cephalaria</i>	SCHRAD.
2 —	—	<i>Dipsacus</i> TOURN.
2 —	—	<i>Pterocephalus</i> VAIL.
3 —	—	<i>Knautia</i> COULT.
7 —	—	<i>Scabiosa</i> L.
2 —	—	<i>Succisa</i> NECK.
1 —	—	<i>Callistemma</i> M. et K.
2 —	—	<i>Morina</i> L.

soit au total 27 espèces sur les 150 environ que compte la famille des Dipsacées (52). Dans l'impossibilité de me procurer les plantes fraîches de la grande majorité de ces espèces, j'ai choisi le plus souvent comme matériel d'étude les akènes mûrs, plus faciles à traiter en petite quantité et généralement plus riches en principe amer lévogyre que les autres organes. Ces akènes m'ont été fournis par divers jardins botaniques ou par d'obligeants récolteurs ¹.

Technique.

J'ai utilisé pour cette recherche la même méthode que pour l'extraction du céphalaroside de *C. syriaca*, mais simplifiée en raison de la faible quantité de matière première mise généralement à ma disposition. Quand les envois étaient suffisamment abondants, cette extraction a été complétée par un essai biochimique. Dans les cas où je ne disposais que de quelques akènes, j'ai dû me contenter d'un essai de localisation microchimique du principe amer.

La technique d'extraction utilisée dans ces essais a été la suivante :

La poudre d'akènes délipidée à l'éther au Kumagava ou au micro-Kumagava est épuisée dans la même cartouche par de l'alcool à 75°. Le résidu d'évaporation de cette lixiviation est repris par 10 à 20 cm³ d'eau distillée, et la solution aqueuse déféquée avec un excès de sous-acétate de plomb. Le filtrat (que je désigne sous le nom de filtrat initial) est additionné d'ammoniaque à 1/10 jusqu'à alcalinité. Le précipité formé est recueilli sur filtre au Büchner, lavé, décomposé par SO⁴H² 1/10 jusqu'à légère acidité, qu'on neutralise aussitôt avec une pincée de carbonate de baryum. On filtre. Le filtrat obtenu (désigné sous le nom de filtrat plombique) est alors mis en contact avec une quantité variable de charbon activé, suivant l'importance de la déviation polarimétrique observée. Après un temps de contact variant de 24 heures à 3 jours, le charbon est lavé à l'eau distillée, séché à l'air, lavé à l'éther anhydre, séché de nouveau au vide puis lixivié avec 10 à 20 cm³ d'alcool méthylique anhydre dans une petite allonge à robinet. Le filtrat méthylique, ajusté à un volume déterminé, est examiné au polarimètre, puis évaporé au vide sulfurique dans une petite capsule tarée, jusqu'à dessiccation totale, et pesé à la balance de précision.

Cette technique m'a donné de bons résultats. Elle m'a parfois permis d'extraire le principe amer de moins d'un gramme d'akènes, dans un état de pureté satisfaisant. Le produit obtenu était généralement bien blanc, et se prêtait facilement aux principaux essais d'identification, autant que le permettait du moins la faible quantité de substance généralement extraite.

1. Je remercie tout particulièrement de leurs envois : MM. les Directeurs des jardins botaniques de Kew, Delft, Copenhague, Bruxelles, Nantes, Rennes, Nancy et Lyon ; M. GUINET, directeur des cultures du Muséum d'Histoire Naturelle de Paris, qui a mis obligeamment à ma disposition toutes ses ressources en graines de Dipsacées ; M. THURIAUX, délégué scientifique de l'Unesco pour le Moyen-Orient, par l'intermédiaire duquel j'ai pu obtenir divers envois précieux, entre autres des akènes de *Morina persica* L.; le R. P. Paul MOUTERDE, de l'Université Saint-Joseph de Beyrouth, qui a bien voulu récolter sur place, à mon intention, plusieurs espèces libanaises ; enfin M. l'abbé DE TARADE qui m'a procuré une bonne quantité d'akènes de *Dipsacus laciniatus* L.

CEPHALARIA JOPPICA SPRENG.

Aire de dispersion géographique : Sicile, Calabre, Cilicie, Liban, Syrie, Palestine.

Origine : Environs de Beyrouth, août 1947.

Partie traitée : Akènes mûrs et racines.

A. — AKÈNES.

Prise d'essai : 10 grammes.

Les akènes pulvérisés ont été épuisés à l'éther de pétrole dans l'appareil de Kumagava.

Lipides totaux : 20 gr. 26 pour 100 grammes d'akènes.

L'huile obtenue est limpide, jaune ambré, assez fluide, inodore et insipide.

Extraction de l'hétéroside :

Le liquide d'épuisement par l'eau de l'extrait alcoolique a été ajusté à 10 cm³ (= 10 grs. d'akènes). Le filtrat, déféqué à l'acétate basique de plomb, est légèrement jaune. Examiné au polarimètre, il présente une déviation de — 3°20'. Après précipitation par l'ammoniaque, le liquide filtré n'a plus qu'une déviation de — 10'.

Le filtrat résultant de la décomposition du précipité plombique par SO⁴H² 1/10 a une déviation de — 2°45'. Après contact de 3 jours avec 3 grammes de charbon activé, il ne présente plus de pouvoir rotatoire. Le charbon lavé et séché est élué par l'alcool méthylique. Le filtrat méthylique est ajusté à 10 cm³. Sa déviation est de — 2°20'.

Évaporé au vide sulfurique, il laisse un résidu blanc, amorphe, friable, qui pèse 0 gr. 114.

Son pouvoir rotatoire absolu est donc :

$$[\alpha]_D^{15} = -102^{\circ}30 \quad (p = 0,114 \quad v = 10 \quad l = 2 \quad \alpha = -2^{\circ}33).$$

Ce résidu a une saveur très amère. Il fond vers 200-205° au bloc Maquenne. Il se dissout avec une intense coloration rouge dans SO⁴H² pur. Sa solution aqueuse, incolore, présente une fluorescence bleu pâle en lumière de Wood. Elle jaunit et perd son amertume après contact de 24 heures avec la soude diluée. Tous ces caractères sont ceux du céphalaroside.

Un essai biochimique rapporté précédemment (v. p. 52) a permis de préciser que le principe lévogyre est un hétéroside hydrolysable par l'émulsine avec un indice de 210.

Il est vraisemblable d'admettre que l'hétéroside amer des akènes de *C. joppica* doit pouvoir s'identifier avec le céphalaroside isolé du *C. syriaca* L.

B. — RACINES.

Prise d'essai : 100 grammes.

Les racines ont été traitées comme les akènes, sauf en ce qui concerne l'épuisement

par l'éther de pétrole qu'il était inutile d'entreprendre, ces organes ne renfermant pas de lipides.

Le filtrat aqueux initial, après reprise de l'extrait alcoolique par 100 cm³ d'eau distillée, a une déviation de — 3°20'. Après précipitation plombique et décomposition par SO⁴H², le filtrat aqueux plombique présente une déviation de — 2°50'. Après adsorption sur charbon, le filtrat précédent n'a plus de pouvoir rotatoire. Le charbon est lavé, séché et élué à l'alcool méthylique. Le filtrat méthylique offre une déviation de — 2°.

Évaporés au vide sulfurique, 25 cm³ de ce filtrat laissent un résidu blanc, amorphe, friable, pesant 0 gr. 2432.

$$[\alpha]_D^{15} = -102^{\circ}75 \quad (p = 0,2432 \quad v = 25 \quad l = 2 \quad z = -2^{\circ}).$$

Ce résidu, de saveur très amère, présente les mêmes caractères que celui qui a été extrait des akènes. Il est, lui aussi, de nature hétérosidique, comme l'a prouvé l'essai biochimique rapporté antérieurement (voir p. 51).

CEPHALARIA DIPSACOIDES BOISS. et BAL. var. *LIBANOTICA* BOISS.

Répartition géographique : L'espèce type dans le Taurus, la variété dans le Liban.

Origine : Environs de Sofar (Liban). Août 1947.

Parties traitées : Racines et akènes mûrs.

A. — AKÈNES.

Prise d'essai : 2 gr. 50.

Épuisement par l'éther de pétrole au micro-Kumagava.

Lipides totaux : 19, 20 %.

L'huile obtenue est limpide, peu fluide, jaune brunâtre, inodore et insipide.

Extraction de l'hétéroside :

Poudre délipidée traitée comme précédemment.

Filtrat aqueux initial : = — 30'. Filtrat aqueux plombique : = — 28'.

Filtrat méthylique : = — 24'.

32 cm³ de ce filtrat ont été évaporés au vide sulfurique. Le résidu sec, amorphe, blanc et friable, pèse 62 mgr. 9. Il fond au bloc Maquenne vers 200-205°.

$$[\alpha]_D^{15} = -101^{\circ}74 \quad (p = 0,062 \quad v = 32 \quad l = 2 \quad z = -24', \text{ soit } 0^{\circ}4).$$

Ce résidu a une saveur très amère. Il prend une belle coloration rouge avec SO⁴H² pur. Sa solution aqueuse, fluorescente en bleu pâle à la lumière de WOOD, jaunit et perd son amertume après addition de soude.

Un essai biochimique pratiqué sur ces akènes (voir p. 53) a démontré que le principe lévogyre est bien un hétéroside tributaire de l'émulsine, d'indice 210.

Comme l'hétéroside de *Cephalaria joppica* SPRENG., le principe amer lévogyre de *C. dipsacoides* BOISS. et BAL. paraît pouvoir être identifié avec le céphalaroside.

B. — RACINES.

Prise d'essai : 300 grammes de racines fraîches.

Épuisement par digestion au B. M. bouillant, à trois reprises, avec 5 volumes d'alcool à 75°. Le filtrat est évaporé et le résidu repris par q. s. d'eau bouillante jusqu'à 300 cm³. On défèque avec un excès d'acétate neutre de plomb au 1/10. Traitement ultérieur comme ci-dessus.

Filtrat aqueux initial : = + 1°30'. Filtrat aqueux plombique : = — 44'.

Contact avec 7 grammes de charbon activé, durant trois jours. Le charbon est lavé, séché et élué avec q. s. d'alcool méthylique.

Filtrat méthylique : $\alpha = 0$.

Ce filtrat, évaporé au vide sulfurique, fournit un résidu blanc crème, friable, amorphe, pesant 0 gr. 591. Il a une saveur très amère, et présente exactement les propriétés chimiques du principe amer retiré des akènes. L'étude biochimique des racines fraîches (voir p. 53) a prouvé qu'il est de nature hétérosidique, avec un indice de réduction de 177 sous l'action de l'émulsine.

L'hétéroside amer des racines de *Cephalaria dipsacoides* BOISS. et BAL. paraît analogue à celui des akènes de la même espèce. Son absence de pouvoir rotatoire reste toutefois inexplicable.

CEPHALARIA ALPINA ROEM. et SCH.

Aire de dispersion : Régions alpines de France, Suisse, Italie.

Origine : Jardin botanique de Bruxelles. Mars 1948.

Partie traitée : Akènes mûrs.

Prise d'essai : 2 grammes.

Épuisement à l'éther de pétrole au micro-Kumagava.

Lipides totaux : 18,13 %.

Huile limpide, peu fluide, jaune clair, inodore et insipide.

Extraction de l'hétéroside :

Traitement de la poudre délipidée comme précédemment. Le liquide d'épuisement par l'alcool est vert clair.

Filtrat aqueux initial : $\alpha = - 40'$. Filtrat aqueux plombique : $\alpha = - 36'$.

Contact avec 1 gr. de charbon activé, durant 48 heures. Éluion à l'alcool méthylique.

Filtrat méthylique : $\alpha = - 28'$.

20 cm³ de ce filtrat, évaporés au vide sulfurique, fournissent un résidu amorphe, blanc, friable, pesant 49 mgr.

P. F. instantané au bloc Maquenne, au voisinage de 200°.

$[\alpha]_D^{15} = -95^{\circ}10$ ($p = 0,04$ $v = 20$ $l = 2$ $\alpha = -28'$, soit 0°466).

Ce résidu a une saveur très amère, et présente, lui aussi, les principaux caractères de l'hétéroside de *C. syriaca* (jaunissement et disparition de l'amertume par les solutions alcalines, fluorescence bleue en lumière de Wood, coloration rouge avec SO_4H^2 pur). La différence de pouvoir rotatoire observée semble due à la présence de quelques impuretés entraînées par l'alcool méthylique, et notamment de saponine, toujours difficile à éliminer totalement.

Observation.

Par traitement des feuilles fraîches de *C. alpina*, WATTIEZ a obtenu en 1929 (90) un résidu incristallisable, de nature hétérosidique, d'indice 302 par hydrolyse sulfurique et 290 par hydrolyse sous l'action de l'émulsine. Il en conclut que cet hétéroside est différent du scabioside retiré par lui des feuilles du *Scabiosa succisa* L. Il ne fournit pas d'autres indications sur ce corps.

CEPHALARIA TATARICA GMEL.

Aire de dispersion : Arménie, Caucase, Iran, Russie orientale, Sibérie.

Origine : Jardins botaniques de Bruxelles et de Delft (Pays-Bas). Mars 1948.

Partie traitée : Akènes mûrs.

Prise d'essai : 6 gr. 841.

Épuisement à l'éther de pétrole au Kumagava.

Lipides totaux : 16,68 %.

Huile limpide, peu fluide, jaune clair, inodore et insipide.

Recherche du principe amer :

Traitement de la poudre délipidée comme précédemment. Le liquide d'épuisement à l'alcool est de couleur vert bleu, et fortement fluorescent en bleu.

Filtrat aqueux initial : $\alpha = -3^{\circ}$. Filtrat aqueux plombique : $\alpha = -2^{\circ}40'$.

Contact de 3 jours avec 2 gr. de charbon activé. Éluion avec q. s. d'alcool méthylique.

Filtrat méthylique : $\alpha = -1^{\circ}15'$.

20 cm³ de ce filtrat, évaporés au vide sulfurique, abandonnent un résidu blanc, amorphe, friable, pesant 0 gr. 126. P. F. instantané au bloc Maquenne vers 200°.

$[\alpha]_D^{15} = -99^{\circ}30$ ($p = 0,126$ $v = 20$ $l = 2$ $\alpha = -1^{\circ}15'$, soit 1°25).

Ce résidu, très amer, présente les mêmes caractères que celui qui a été extrait des akènes de *C. alpina* L. La faiblesse relative du pouvoir rotatoire paraît due, ici encore, à une impureté. Comme le précédent, le principe amer lévogyre de *Cephalaria tatarica* GMEL. a des caractères analogues au céphalarioside. Sa nature hétérosidique n'a toutefois pas pu être confirmée encore par un essai d'hydrolyse.

CEPHALARIA PILOSA Boiss. et HUET.

Aire de dispersion : Liban, Arménie.

Origine : Djebel-Barouk (Liban). Août 1947.

Partie traitée : Quelques akènes mûrs.

Recherche de l'hétéroside :

L'extraction du principe amer n'a pas pu être tentée, faute d'une quantité suffisante d'akènes. Une coupe à sec, traitée par SO^4H^2 , a présenté une forte coloration rouge sur toute l'étendue de l'amande, avec accentuation autour des faisceaux libéro-ligneux.

CEPHALARIA SETOSA Boiss.

Aire de dispersion : Haut-Liban, Syrie, Kurdistan.

Origine : Région de Zahlé (Liban).

Partie traitée : Quelques akènes mûrs.

Recherche de l'hétéroside :

Même remarque et mêmes résultats que pour l'espèce précédente, sous l'action de SO^4H^2 .

CEPHALARIA STELLIPILIS Boiss.

Aire de dispersion : Haut-Liban, Syrie.

Origine : Région de Bloudan (Syrie).

Partie traitée : Quelques akènes mûrs.

Recherche de l'hétéroside :

Même remarque et mêmes résultats que précédemment.

DIPSACUS LACINIATUS L.

Aire de dispersion : Macédoine, Turquie, Liban, Syrie, Iran.

Origine : Tanaïl (Liban). Août 1947.

Partie traitée : Akènes mûrs et racines.

A. — AKÈNES.

Prise d'essai : 50 grammes.

Épuisement à l'éther de pétrole au Kumagava.

Lipides totaux : 19,21 %.

Huile limpide, assez fluide, jaune ambré, inodore et insipide.

Extraction de l'hétéroside :

Poudre délipidée traitée comme précédemment par épuisement alcoolique, reprise du résidu d'évaporation par l'eau, défécation par un excès de sous-acétate de plomb.

Filtrat aqueux initial : = $-12^{\circ}55'$. Après addition d'ammoniaque 1/10, séparation du précipité, décomposition par SO^4H^2 1/10 et filtration du magma. Le filtrat aqueux plombique présente une déviation de $-9^{\circ}16'$.

Contact avec 7 gr. de charbon activé durant 4 jours. Lavage du charbon, séchage et élution à l'alcool méthylique absolu. Le filtrat méthylique a une déviation de $-12^{\circ}40'$.

20 cm^3 de ce filtrat ont été évaporés au vide sulfurique. Le résidu, amorphe, blanc et friable, pèse 1 gr. 251.

$$[\alpha]_D^{15} = -101^{\circ}20 \quad (p = 1,251 \quad v = 20 \quad l = 2 \quad \alpha = -12^{\circ}40', \text{ soit } 12^{\circ}66).$$

Ce résidu fond au bloc Maquenne aux environs de $+190^{\circ}$. Il présente une saveur très amère. Sa solution aqueuse est fluorescente en bleu à la lumière de Wood. Elle jaunit par addition de soude en perdant son amertume. Le produit prend une coloration rouge sous l'action de SO^4H^2 .

Tous ces caractères le rapprochent du céphalaroside. L'essai biochimique pratiqué sur les akènes (v. p. 55) a permis de s'assurer que le principe lévogyre est un hétéroside dédoublable par l'émulsine, d'indice 214.

Sa nature hétérosidique et son analogie avec le céphalaroside ont été confirmées par l'essai d'hydrolyse acide suivant :

Essai d'hydrolyse.

40 cm^3 d'une solution aqueuse à 1 % du produit précédent ont été additionnés de 40 cm^3 de SO^4H^2 à 6% et hydrolysés 6 heures au bain-marie bouillant. Le liquide résultant est jaune pâle et tient en suspension un précipité granuleux jaunâtre. On perçoit une odeur aromatique à l'ouverture de l'ampoule.

Le liquide d'hydrolyse a été neutralisé au carbonate de baryum, filtré et épuisé par l'éther. On a pratiqué alors le dosage du réducteur et l'examen polarimétrique.

	DÉVIATION $l = 2$	RÉDUCTEUR EN GLUCOSE POUR 100 CM^3
Au départ.	-1°	0
Après hydrolyse (6 heures)	$-5'$	0 gr. 1875

Indice de réduction : 204. Sucre réducteur libéré : 46,87 %.

Ces deux constantes sont très voisines de celles que fournit le céphalaroside dans les mêmes conditions.

B. — RACINES FRAICHES.

Prise d'essai : 375 grammes. (Juin 1948, au moment de la floraison.)

Extraction de l'hétéroside :

Épuisement par digestion au bain-marie bouillant, à trois reprises, avec 5 volumes d'alcool à 85°. Le filtrat est évaporé, le résidu repris par l'eau et on complète à 375 cm³. On défèque avec un excès d'acétate basique de plomb.

Filtrat aqueux initial : $\alpha = -3^{\circ}20'$. Filtrat aqueux plombique : $\alpha = -1^{\circ}30'$.

Contact avec 3 grammes de charbon activé, durant 3 jours. Le charbon, lavé et séché, est élué avec q. s. de CH³OH.

Filtrat méthylique : $\alpha = -30'$.

25 cm³ de ce filtrat, évaporés au vide, laissent un résidu blanc, amorphe, qui pèse 0 gr. 0713.

$[\alpha]_D^{25} = -87^{\circ}65$ ($p = 0,0713$ $v = 25$ $l = 2$ $\alpha = -30'$, soit 0°5).

Ce résidu présente une saveur amère, qui disparaît par addition de soude en solution aqueuse. Il rougit avec SO⁴H². Sa solution est fluorescente en bleu pâle à la lumière de Wood. Malgré son faible pouvoir rotatoire dû, sans doute, aux impuretés entraînées par l'alcool méthylique, et qu'il n'a pas été possible d'éliminer, en raison de la petite quantité de substance extraite, l'hétéroside des racines de *D. laciniatus* L., dont l'indice, déterminé par un essai biochimique à l'émulsine (v. page 55) est d'environ 240, semble bien pouvoir être identifié à celui des akènes mûrs.

DIPSACUS SYLVESTRIS HUDS.

Aire de dispersion : Europe, Afrique du Nord, Liban (rare).

Origine : Jardin botanique de Bruxelles. Mars 1948.

Partie traitée : Akènes mûrs.

Prise d'essai : 1 gr. 50.

Épuisement à l'éther de pétrole au micro-Kumagava.

Lipides totaux : 21,95 %.

L'huile obtenue a les mêmes caractères que celle des akènes de *D. laciniatus* L.

Extraction de l'hétéroside :

Traitement de la poudre délipidée comme précédemment.

Filtrat aqueux initial : $\alpha = -1^{\circ}10'$. Filtrat aqueux plombique : $\alpha = -30'$.

Contact de 2 jours avec 1 gr. 50 de charbon activé. Éluion avec q. s. d'alcool méthylique.

Filtrat méthylique : $\alpha = -10'$.

20 cm³ de ce filtrat, évaporés au vide sulfurique, laissent un résidu qui pèse 16 mgr. 4.

$[\alpha]_D^{25} = -101^{\circ}21$ ($p = 0,0164$ $v = 20$ $l = 2$ $\alpha = -10'$, soit 0°166).

Ce résidu a exactement les caractères de l'hétéroside du *D. laciniatus* L.

PTEROCEPHALUS PLUMOSUS L. (COULT.).

Aire de dispersion : Toute l'Asie Mineure, Grèce et Iles grecques.

Origine : Antélias (Liban). Juin 1947.

Partie traitée : Akènes mûrs.

Prise d'essai : 0 gr. 90, soit 150 akènes mûrs.

On a séparé les graines du péricarpe pour les pulvériser. Épuisement à l'éther de pétrole au micro-Kumagava.

Lipides totaux : 9,864 % pour 100 grammes d'akènes.

— : 31,20 % pour 100 grammes de graines isolées.

La minime quantité d'huile obtenue (0 gr. 1096) n'a pas permis d'en apprécier les caractères organoleptiques.

Recherche de l'hétéroside :

En raison de la faible quantité de matière première, le résidu de l'extraction alcoolique a été repris par l'eau et cette solution directement mise en contact avec 1 gramme de charbon actif sans passer par la précipitation à l'acétate de plomb ammoniacal. Le charbon lavé et séché a été élué avec q. s. d'alcool méthylique.

Filtrat aqueux initial : $\alpha = -20'$. Filtrat méthylique : $\alpha = -11'$.

Le résidu d'évaporation de 25 cm³ de ce filtrat pèse 22 mgr. 6. Il est jaunâtre, amorphe.

$[\alpha]_D^{20} = -105^{\circ}08$ ($p = 0,026$ $v = 25$ cm³ $l = 2$ $\alpha = -11'$, soit 0°19).

Résidu très amer, à solution aqueuse fluorescente en bleu pâle, jaunissant par les alcalis en perdant son amertume. Se colore en rouge par SO⁴H².

Un essai biochimique pratiqué sur les akènes (v. p. 57) a permis de caractériser ce principe lévogyre comme un hétéroside justiciable de l'émulsine, d'indice égal à 219. Les constantes et les caractères de cet hétéroside le rapprochent nettement du céphalarioside.

PTEROCEPHALUS INVOLUCRATUS (SIBTH. et SM.) SPRENG.

Aire de dispersion : Crète, Chypre, Liban, Syrie, Palestine, Mésopotamie, Iran, Arabie.

Origine : Djebel Sannin (Liban). Été 1947.

Partie traitée : Quelques akènes mûrs.

Recherche de l'hétéroside :

Faute d'une quantité suffisante d'akènes, l'extraction n'a pas pu être tentée. On a obtenu une vive coloration rouge de l'amande sur une coupe à sec traitée par SO⁴H².

SCABIOSA PROLIFERA L.

Aire de dispersion : Liban, Palestine, Chypre.

Origine : Environs de Beyrouth. Mai 1947.

Partie traitée : Akènes murs.

Prise d'essai : 50 grammes.

Épuisement à l'éther de pétrole au Soxhlet.

Lipides totaux : 9,95 %.

L'huile obtenue est limpide, peu fluide, jaune pâle, inodore et insipide.

Recherche de l'hétéroside :

Traitement de la poudre délipidée comme précédemment. Le filtrat aqueux après défécation plombique est de couleur jaune canari. L'acétate de plomb ammoniacal fournit un précipité de même couleur. La décomposition de ce précipité par SO^4H^2 donne après neutralisation un filtrat également jaune canari.

Filtrat aqueux initial : $\alpha = -30'$. Filtrat aqueux plombique : $\alpha = -20'$.

Ce dernier a été mis en contact avec 2 grammes de charbon activé. Le charbon, élué à l'alcool méthylique, donne un filtrat jaune pâle, dont le $\alpha = -3'$.

Le résidu d'évaporation de ce filtrat est poisseux, de couleur jaune pâle, et ne présente qu'une légère saveur amère. SO^4H^2 ne lui communique qu'une coloration rougeâtre. Il ne renferme donc que des traces d'hétéroside, sans doute souillées par des impuretés, dont un pigment jaune (probablement flavonique).

Ces résultats confirment les essais biochimiques effectués précédemment, qui montrent la disparition quasi totale de l'hétéroside lévogyre au cours de la maturation des akènes. Cet hétéroside n'en a pas moins été décelé dans les akènes en fructification et dans les organes végétatifs de la Scabieuse prolifère par la méthode biochimique (v. p. 36), et son indice émulsine, égal ou voisin de 210, s'identifie pratiquement avec celui du céphalaroside.

D'autre part, l'action de SO^4H^2 sur une coupe de graine isolée fait apparaître une coloration rose peu accentuée dans l'albumen et les cotylédons.

SCABIOSA PALOESTINA L. var. *MICROCEPHALA* Boiss.

Aire de dispersion : Cilicie, Arménie, Iran, Mésopotamie, Liban, Palestine.

Origine : Jamhour (Liban). Juin 1947.

Partie traitée : Akènes murs.

Prise d'essai : 54 grammes.

Épuisement à l'éther de pétrole au Soxhlet.

Lipides totaux : 9,70 %.

L'huile obtenue est limpide, peu fluide, de couleur jaune verdâtre, inodore et insipide.

Recherche de l'hétéroside :

La poudre délipidée a été épuisée par l'alcool à 75° et le résidu d'évaporation a été traité comme précédemment. Après défécation plombique, le filtrat initial a une couleur jaune canari, comme dans l'espèce précédente, de même que le précipité plombique ammoniacal et le liquide résultant de sa décomposition par SO^4H^2 .

Filtrat aqueux initial : $\alpha = -30'$. Filtrat aqueux plombique : $\alpha = -16'$.

Ce filtrat a été mis en contact avec 2 grammes de charbon activé. Le charbon lavé et séché a été élué avec q. s. d'alcool méthylique. Il présente une déviation de $-2'$.

L'évaporation de ce filtrat donne un résidu poisseux, jaunâtre, à saveur légèrement amère, qui fournit avec SO^4H^2 une coloration rougeâtre. Il ne renferme, lui aussi, que des traces d'hétéroside, souillé par des impuretés, dont un pigment jaune.

Il y a lieu de supposer que l'hétéroside lévogyre dont la présence dans les différents organes de la Scabieuse de Palestine a été révélée par les essais biochimiques rapportés antérieurement, a disparu presque totalement au cours de la maturation des akènes. comme pour la Scabieuse prolifère. Rappelons, néanmoins, que l'indice émulsine fourni par l'essai biochimique de ces akènes (v. p. 58) est égal à 208, ce qui rapproche l'hétéroside de *Scabiosa palaestina* L., comme celui de *Scabiosa prolifera* L., du céphalarioside.

Observation :

La coupe de graine isolée ne prend sous l'action de SO^4H^2 qu'une coloration rose localisée à l'albumen et aux cotylédons.

SCABIOSA ARGENTEA L. (= SCABIOSA UCRANICA DESF.).

Aire de dispersion : Tout le Proche-Orient jusqu'à l'Iran.

Origine : Ehden (Liban). Juin 1947.

Partie traitée : Akènes mûrs.

Prise d'essai : 0 gr. 422.

Épuisement à l'éther de pétrole au micro-Kumagava.

Lipides totaux : 11,58 %.

La minime quantité d'huile obtenue n'a pas permis d'en étudier les caractères organoleptiques.

Recherche de l'hétéroside :

La poudre délipidée a été épuisée par l'alcool à 75° au micro-Kumagava. En raison du poids restreint de matière première, le résidu de l'extraction alcoolique a été repris par l'eau et mis directement en contact avec 0 gr. 50 de charbon activé, après défécation plombique. Le charbon lavé et séché a été élué avec q. s. d'alcool méthylique.

Le filtrat aqueux initial présente une déviation de $-10'$. Il est de couleur jaune serin comme celui des deux espèces du genre *Scabiosa* déjà examinées.

Le filtrat méthylique n'a plus de pouvoir rotatoire appréciable. Évaporé, il fournit un résidu poisseux, jaune, de saveur légèrement amère, ne donnant avec SO^4H^2 qu'une faible coloration rougeâtre. Il ne renferme donc que des traces de principe amer.

Il est vraisemblable de supposer que le *Scabiosa argentea* L. se comporte comme le *Scabiosa prolifera* L. et le *Scabiosa paloestina* L. quant à l'évolution de l'hétéroside lévogyre dans les akènes en maturation. La présence de cet hétéroside a, en effet, été révélée dans les organes végétatifs et les capitules de cette espèce par un essai biochimique, et il possède, lui aussi, un indice de réduction voisin de 210 (208).

Observation :

La coupe de graine isolée prend la même coloration que celle des deux Scabieuses précédentes par action de SO^4H^2 .

SCABIOSA COLUMBARIA L.

Aire de dispersion : Europe, Caucase, Taurus, Afrique du Nord.

Origine : Jardins botaniques de Bruxelles, Lyon et Nantes. (Avril 1948.)

Partie traitée : Akènes mûrs.

Prise d'essai : 0 gr. 886.

Épuisement à l'éther de pétrole au micro-Kumagava.

Lipides totaux : 12,52 %.

La minime quantité d'huile obtenue n'a pas permis d'en apprécier les caractères organoleptiques.

Recherche de l'hétéroside :

Poudre délipidée épuisée à l'alcool à 75° au micro-Kumagava. Pour les mêmes raisons que précédemment, on a supprimé la précipitation plombique ammoniacale et on a mis directement en contact le liquide déféqué, avec 0 gr. 50 de charbon activé. Le charbon a été élué avec de l'alcool méthylique après lavage et séchage.

Filtrat aqueux initial légèrement jaune : $\alpha = - 14'$.

Filtrat méthylique jaunâtre : $\alpha = - 2'$.

Il a été évaporé au vide. Le résidu de cette évaporation est jaunâtre, poisseux, sans saveur amère marquée. Il ne donne qu'une coloration rougeâtre avec SO^4H^2 . Il est impossible dans ces conditions d'avancer qu'on se trouve en présence d'un principe amer lévogyre, même à l'état de traces.

Pourtant, des essais biochimiques effectués par WATTIEZ (90) en 1929 sur les feuilles de cette espèce, lui ont révélé la présence d'un hétéroside lévogyre d'indice 207, qui paraît bien être analogue au principe qui a été rencontré jusqu'ici dans les différentes espèces de Scabieuses déjà examinées.

Observation :

La coupe présente la même coloration sulfurique que celle de *Sc. prolifère*.

SCABIOSA ATROPURPUREA L.

Aire de dispersion : Région méditerranéenne, Afrique du Nord.

Origine : Jardin botanique de Bruxelles.

Partie traitée : Quelques akènes mûrs.

Recherche de l'hétéroside :

On n'a pu rechercher la présence du principe amer que par l'action de SO_4H^2 sur la coupe. Celui-ci a fourni la même coloration que sur la coupe de *Sc. prolifère*.

SCABIOSA CAUCASICA M. B.

Aire de dispersion : Caucase.

Origine : Jardin botanique de Bruxelles.

Partie traitée : Quelques akènes mûrs.

Recherche de l'hétéroside :

Même remarque et mêmes résultats que pour le *Sc. atropurpurea* L.

Observation :

En 1929, WATTIEZ (90), par un essai biochimique à l'émulsine, a signalé que les feuilles de cette espèce renferment probablement du « scabioside », mélangé à du méthylglucoside β .

SCABIOSA GRAMINIFOLIA L.

Aire de dispersion : Europe montagnaise.

Origine : Jardin botanique de Bruxelles.

Partie traitée : Quelques akènes mûrs.

Recherche de l'hétéroside :

Même remarque et mêmes résultats que pour les deux espèces précédentes.

CALLISTEMMA BRACHIATUM BOISS.

Aire de dispersion : Italie, Dalmatie, Grèce et îles grecques, Anatolie.

Origine : Jardins botaniques de Bruxelles et de Lyon.

Partie traitée : Quelques akènes mûrs.

Recherche de l'hétéroside :

Il n'a pas été possible de tenter une extraction du principe amer, les akènes reçus n'étant pas en quantité suffisante.

Néanmoins, on a essayé l'action de SO^4H^2 sur la coupe de graine isolée. On a obtenu une coloration rose analogue à celle qu'a fournie la coupe d'akène de Scabieuse prolifère, coloration localisée dans l'albumen et les cotylédons.

Cette graine ayant une amertume légère, mais nette, on peut soupçonner que le *Callistemma brachiatum* Boiss., spécifiquement très voisin des Scabieuses, renferme, lui aussi, un peu du principe amer rencontré dans les espèces du genre *Scabiosa*.

SUCCISA PRATENSIS MOENCH (= SCABIOSA SUCCISA L.).

Aire de dispersion : Europe, Sibérie orientale, Caucase, Afrique du Nord.

Origine : Jardins botaniques de Bruxelles et de Lyon. (Avril 1948.)

Partie traitée : Akènes mûrs.

Prise d'essai : 0 gr. 333.

Épuisement à l'éther de pétrole au micro-Kumagava.

Lipides totaux : 16,14 %.

Recherche de l'hétéroside :

Poudre délipidée épuisée à l'alcool à 75° au micro-Kumagava. Ici encore, on a supprimé la précipitation plombique ammoniacale et traité directement le liquide d'extraction déféqué, par 0 gr. 50 de charbon activé. Celui-ci a été élué avec de l'alcool méthylique.

Le filtrat aqueux initial, jaunâtre, a une déviation de — 14'.

Le filtrat méthylique, incolore, une déviation de — 9'.

L'évaporation de ce dernier fournit un résidu blanc, amorphe, qui pèse 14 mgr. 8.

$[\alpha]_D^{25} = -101^{\circ}30$ ($p = 0,014$ $v = 20 \text{ cm}^3$ $l = 2$ $\alpha = -9'$, soit $0^{\circ}15$).

Ce résidu, contrairement à celui qui a été extrait des akènes de Scabieuses proprement dites, présente une saveur nettement amère et donne une coloration rose violacé intense avec SO^4H^2 . Sa solution aqueuse jaunit au contact des bases alcalines en perdant son amertume.

Le *Scabiosa succisa* L. (= *Succisa pratensis* MOENCH) contient donc dans ses akènes un peu du principe amer lévogyre que BOURQUELOT et BRIDEL (13), puis WATTIEZ (88) avaient isolé des racines et des feuilles de cette espèce sous le nom de « scabiosine » ou de « scabioside ».

Observation :

Une coupe d'akènes se colore assez intensément en rouge sous l'action de SO^4H^2 , au niveau de l'albumen et des cotylédons.

SUCCISA AUSTRALIS REICHB. = *SUCCISELLA INFLEXA* KLUX. =
SCABIOSA AUSTRALIS WULF.

Aire de dispersion : France, Italie, Europe méridionale, Russie, Caucase.

Origine : Jardin botanique de Delft.

Partie traitée : Quelques akènes mûrs.

Recherche de l'hétéroside :

Tentative d'extraction impossible, par suite de la minime quantité d'akènes reçus.
Une coupe de graine prend une coloration rouge vif sous l'action de SO^4H^2 , avec la même localisation que dans l'espèce précédente.

KNAUTIA ARVENSIS L.

Aire de dispersion : Europe et Sibérie.

Origine : Jardin botanique de Delft. Mai 1948.

Partie traitée : Akènes mûrs.

Prise d'essai : 5 grammes.

Épuisement à l'éther de pétrole, au Kumagava.

Lipides totaux : 19,50 %.

L'huile obtenue est limpide, assez fluide, de couleur verte, inodore et insipide.

Recherche de l'hétéroside :

Poudre délipidée traitée comme précédemment, par épuisement à l'alcool, reprise du résidu d'évaporation par l'eau, défécation, précipitation du complexe plombique ammoniacal, décomposition de ce complexe par SO^4H^2 au 1/10, adsorption du filtrat sur charbon activé, suivie d'une élution par l'alcool méthylique anhydre.

Le filtrat aqueux initial, jaune, présente une déviation de $-30'$.

Le filtrat aqueux plombique, incolore, conserve une déviation de $-25'$.

Le filtrat méthylique, incolore, offre une déviation de $-14'$.

Ce dernier filtrat, évaporé au vide, fournit un résidu blanc, amorphe, friable, pesant 32 mgr. 5.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{28} = -96^{\circ}15 \quad (p = 0,0325 \quad v = 25 \text{ cm}^3 \quad l = 2 \quad \alpha = -14', \text{ soit } 0,25).$$

Ce résidu a une saveur nettement amère, présente une fluorescence bleu pâle en lumière de Wood, et prend une coloration rouge vif avec SO^4H^2 . Il jaunit et perd son amertume en se dissolvant dans les lessives alcalines.

Les akènes de *Knautia arvensis* L. renferment donc une certaine proportion d'un principe amer lévogyre analogue à celui qui a été rencontré jusqu'ici dans les différentes espèces de Dipsacées.

Un essai biochimique à l'émulsine pratiqué par WATTIEZ en 1929 (90) sur les feuilles de cette espèce lui ayant donné un résultat négatif, cet auteur en conclut que les feuilles ne renferment pas de glucoside. J'ai donc voulu m'assurer de la nature hétérosidique du principe amer existant dans les akènes de *Knautia arvensis* L. par un essai d'hydrolyse à l'émulsine. Cet essai a été positif, l'indice de réduction enzymolytique étant voisin de 225.

Observation :

La coupe de graine se colore en rouge vif par SO^4H^2 , mais assez tardivement. La coloration est, ici encore, localisée dans l'albumen et les cotylédons.

KNAUTIA ORIENTALIS L.

Aire de dispersion : Macédoine, Turquie, Transcaucasie.

Origine : Jardin botanique de Lyon. (Avril 1948.)

Partie traitée : Akènes mûrs.

Prise d'essai : 0 gr. 336.

Lipides totaux par épuisement à l'éther de pétrole : 23,24 %.

Huile verte, assez fluide, inodore et insipide.

Recherche de l'hétéroside :

Poudre délipidée traitée comme précédemment. Le filtrat aqueux initial, déféqué, présente une déviation de $-10'$ pour 10 cm^3 . Après précipitation du complexe plombique ammoniacal et libération par SO^4H^2 au 1/10 du principe entraîné, le filtrat ne présente plus qu'une déviation de $-2'$. La faiblesse de cette déviation rendait vaine toute tentative d'extraction par le charbon et le méthanol.

Cet essai serait donc à reprendre avec une plus grande quantité de matière première. Il est vraisemblable toutefois que les akènes de *Knautia orientalis* L. renferment un principe amer analogue à celui du *Knautia arvensis* L., la coupe de graine isolée se colorant nettement en rouge par SO^4H^2 et la graine présentant une saveur amère très nette.

KNAUTIA HYBRIDA ALL. (COULT.).

Aire de dispersion : Europe, Amanus, Syrie (littoral des Alaouïtes).

Origine : Jardin botanique de Lyon. (Mai 1948.)

Partie traitée : Quelques akènes mûrs.

Recherche de l'hétéroside :

L'extraction de l'hétéroside n'a pas pu être entreprise faute d'une quantité suffisante d'akènes.

Une coupe de graine prend une coloration rouge sous l'action de SO^4H^2 , au même niveau que dans le *Knautia arvensis* L.

La graine présentant d'autre part une saveur amère très nette, il est probable qu'elle renferme un principe amer analogue à celui du *Knautia arvensis* L.

MORINA PERSICA L.

Aire de dispersion : Toute l'Asie Mineure jusqu'à l'Iran, Liban, Grèce.

Origine : Ehden (Liban). Jardins botaniques de Kew et du Muséum d'Histoire naturelle de Paris.

Partie traitée : Akènes mûrs.

Prise d'essai : 1 gr. 280.

Épuisement à l'éther de pétrole au micro-Kumagava.

Lipides totaux : 24,80 %.

L'huile obtenue est limpide, jaune pâle, inodore et insipide.

Recherche de l'hétéroside :

La poudre délipidée a été traitée par la même méthode que précédemment, avec extraction alcoolique, reprise du résidu par l'eau, défécation du liquide à l'acétate de plomb, précipitation du filtrat par l'ammoniaque diluée, décomposition du léger précipité obtenu, à l'aide de SO^4H^2 1/10, adsorption du filtrat sur charbon activé, lavage et séchage du charbon, puis élution par l'alcool méthylique absolu.

Le filtrat aqueux initial, jaunâtre, présente une déviation de + 15'.

Le filtrat aqueux plombique, incolore, accuse encore une déviation de + 12'.

Le filtrat méthylique, incolore, ne présente plus aucune déviation.

Ce dernier filtrat n'en a pas moins été évaporé au vide sulfurique. On obtient 17 mgr. d'un résidu blanc, amorphe. Ce résidu n'a aucune saveur amère et ne donne avec SO^4H^2 qu'une coloration brunâtre.

Manifestement, d'après l'absence de pouvoir rotatoire du filtrat méthylique et les caractères négatifs du résidu d'évaporation de ce filtrat, les akènes de *Morina persica* L. ne renferment pas trace du principe amer lévogyre rencontré dans les véritables Dip-sacées. Les graines sont d'ailleurs totalement dépourvues d'amertume.

Cet essai confirme pleinement les essais biochimiques rapportés dans la première partie de ce travail (v. p. 61), essais qui ont déjà révélé l'absence d'hétéroside lévogyre d'indice 210 dans les organes végétatifs et les fleurs de cette espèce.

MORINA LONGIFOLIA L. (WALL.).

Aire de dispersion : Népal.

Origine : Jardins botaniques de Kew et du Muséum d'Histoire naturelle de Paris. (Avril 1948). Jardin botanique de la Faculté des Sciences de Lille. (Sept. 1948.)

Partie traitée : Akènes mûrs.

Prise d'essai : 1 gr. 668.

Épuisement à l'éther de pétrole au micro-Kumagava.

Lipides totaux : 23 %.

L'huile obtenue est limpide, jaune clair, inodore et insipide.

Recherche de l'hétéroside :

Poudre délipidée traitée comme celle de *Morina persica* L.

Le filtrat aqueux initial, jaune pâle, présente une déviation de + 12'.

Le filtrat aqueux plombique, incolore, n'a plus qu'une déviation de + 2'.

Le filtrat méthylique n'offre pas de déviation appréciable.

Ce dernier filtrat a été évaporé au vide sulfurique. Le résidu d'évaporation, blanc et amorphe, pèse 12 mgr. 3. Il est dépourvu de saveur amère et ne donne avec SO^4H^2 qu'une coloration brune. Il est donc constitué par des impuretés entraînées par l'alcool méthylique.

De même que ceux de l'espèce précédente, les akènes de *Morina longifolia* WALL. sont complètement privés de principe amer lévogyre.

Essai biochimique :

Le *Morina longifolia* WALL. n'existant pas dans le Proche-Orient, je ne puis fournir ici aucune donnée sur la biochimie de ses organes végétatifs et floraux.

J'ai toutefois pu procéder à un essai biochimique sur les akènes mûrs pour connaître la nature de leur contingent glucidique. Voici les résultats obtenus, rapportés à $100 \text{ cm}^3 = 100$ grammes d'akènes :

Déviati on initiale (l = 2).....	+ 2°45'	Réducteur initial en glucose.....	0 gr. 225
Déviati on après invertine.....	— 35'	Réducteur après invertine.....	2 gr. 250
Déviati on après émulsine.....	— 30'	Réducteur après émulsine.....	2 gr. 255
Par invertine recul.....	3°20'	Par émulsine retour.....	5'
Sucre formé.....	2 gr. 025	Sucre formé.....	0 gr. 005
Indice.....	606	Indice.....	—

La déviation initiale est nettement dextrogyre. L'invertine détermine un recul de 3°20' vers la gauche et fait apparaître plus de 2 grammes de réducteur, avec un indice de 606. Le sucre hydrolysé par ce ferment est donc vraisemblablement du saccharose.

L'émulsine ne produit ensuite qu'une variation insignifiante du réducteur et de la déviation polarimétrique. Les akènes de *Morina longifolia* WALL. ne renferment donc pas d'hétéroside hydrolysable par l'émulsine. Ils sont d'ailleurs totalement dépourvus d'amertume, comme ceux du *Morina persica* L.

CONCLUSIONS

Si l'on rassemble les résultats des essais biochimiques rapportés dans la première partie de ce travail, et ceux que fournissent les recherches précédentes, on peut classer les espèces examinées en trois groupes :

1° Dans un premier groupe, comprenant les espèces des genres *Cephalaria*, *Dipsacus*, *Pterocephalus* et *Knautia*, on a pu déceler dans les akènes mûrs et parfois dans les racines, une notable proportion d'un principe amer lévogyre dont les constantes physiques et les propriétés chimiques essentielles sont apparemment très voisines de celles du céphalarioside extrait des akènes de *Cephalaria syriaca* L. (SCHRAD.) et du scabioside isolé par BOURQUELOT et BRIDEL (13), puis par WATTIEZ (88), du *Scabiosa succisa* L. Ce principe amer a été reconnu de nature hétérosidique et tributaire de l'émulsine chaque fois qu'il a pu être soumis à l'action de ce ferment.

2° Dans un deuxième groupe, auquel se rattachent les espèces du genre *Scabiosa* et des genres voisins (*Callistemma* et *Succisa*), ce principe amer lévogyre ne se retrouve plus qu'en faible quantité dans les akènes mûrs, mais il est plus abondant dans les akènes en maturation et les organes végétatifs, au moins dans le *Scabiosa prolifera* L. et le *Scabiosa paloestina* L., ainsi que dans le *Succisa pratensis* MOENCH (= *Scabiosa succisa* L.) où les essais biochimiques à l'émulsine pratiqués par les auteurs précités (13, 88, 89) ont prouvé sa nature hétérosidique.

3° Dans un troisième groupe, comprenant exclusivement les espèces du genre *Morina* L., ni les akènes, ni les organes végétatifs ne renferment de principe amer lévogyre.

En l'absence d'autres caractères biochimiques précis, cette distinction entre les différents genres de Dipsacées peut, semble-t-il, servir de base provisoire à une ébauche de classification chimique de la famille.

CHAPITRE II

CHIMISME ET CLASSIFICATION CHEZ LES DIPSACÉES

Si l'on excepte le genre *Morina*, qui s'écarte des autres genres de la famille par la majorité de ses caractères végétatifs et floraux, les Dipsacées forment un groupe d'une incontestable unité morphologique, ce qui n'exclut pas qu'elles puissent avoir quelques affinités avec les familles voisines, Composées et Valérianacées notamment.

Cette homogénéité paraît se retrouver dans leur répartition géographique. Les Dipsacées se cantonnent presque exclusivement dans la flore paléarctique, leur zone d'extension se trouvant comprise entre les contreforts orientaux de la chaîne himalayenne, l'Europe septentrionale et l'Afrique du Nord, avec une abondance particulière dans la zone méditerranéenne orientale où l'on trouve plus de 80 % des espèces.

L'homogénéité des Dipsacées est-elle confirmée par l'étude de leur chimisme, en particulier de leur chimisme glucidique ? C'est ce qui nous reste à examiner, à la lumière des résultats qui précèdent.

I. — AFFINITÉS AVEC LES FAMILLES VOISINES

Si les Dipsacées ont réellement des affinités avec les Composées, la nature de leur réserve glucidique doit permettre de le préciser. Les Composées élaborant des fructoholosides, la présence de ces glucides dans les Dipsacées serait un argument décisif pour rapprocher les deux familles. On a vu que certains auteurs donnent l'inuline comme constituant de certaines espèces, DRAGGENDORF (35) puis GRIGNON (42) l'ayant signalée dans les racines de *Cephalaria procera* L. et de *Dipsacus sylvestris* L.

Sur ce point, les recherches entreprises dans ce travail apportent une conclusion négative et confirment l'opinion déjà exprimée par M^{lle} CHOLLET en 1942 (25). Aucun fructoholoside n'a pu être décelé dans les organes souterrains ou aériens des différentes espèces de Dipsacées examinées. Les Dipsacées se séparent donc nettement des Composées par cet important caractère. Le seul holoside de réserve est toujours le saccharose, qui paraît bien être le constituant glucidique fondamental de l'ensemble du groupe.

La distinction d'avec les Valérianacées est moins précisée du point de vue biochimique. On trouve aussi le saccharose sans fructoholoside dans les organes souterrains

des Valérianacées (HARLAY, 45). Quant à l'acide chlorogénique, si répandu dans beaucoup d'autres familles (72), il ne saurait constituer un test de discrimination. A défaut d'un autre glucide spécifique, la présence de l'hétéroside lévogyre isolé ou entrevu dans la majorité des Dipsacées proprement dites, paraît un caractère suffisant pour établir la distinction entre cette famille et les familles voisines. Et c'est pourquoi, de prime abord, la position systématique du genre *Morina* est embarrassante au regard de la biochimie.

II. — CLASSIFICATION ET SUBDIVISION EN GENRES. COMPARAISON ENTRE LA CLASSIFICATION MORPHOLOGIQUE ET LA CLASSIFICATION CHIMIQUE

Examinons maintenant, à l'intérieur du groupe, les affinités des différents genres entre eux. En présence des différentes classifications proposées par les systématiciens, à laquelle faut-il donner la préférence ? Et les subdivisions génériques actuellement admises sont-elles justifiées ?

Classification morphologique.

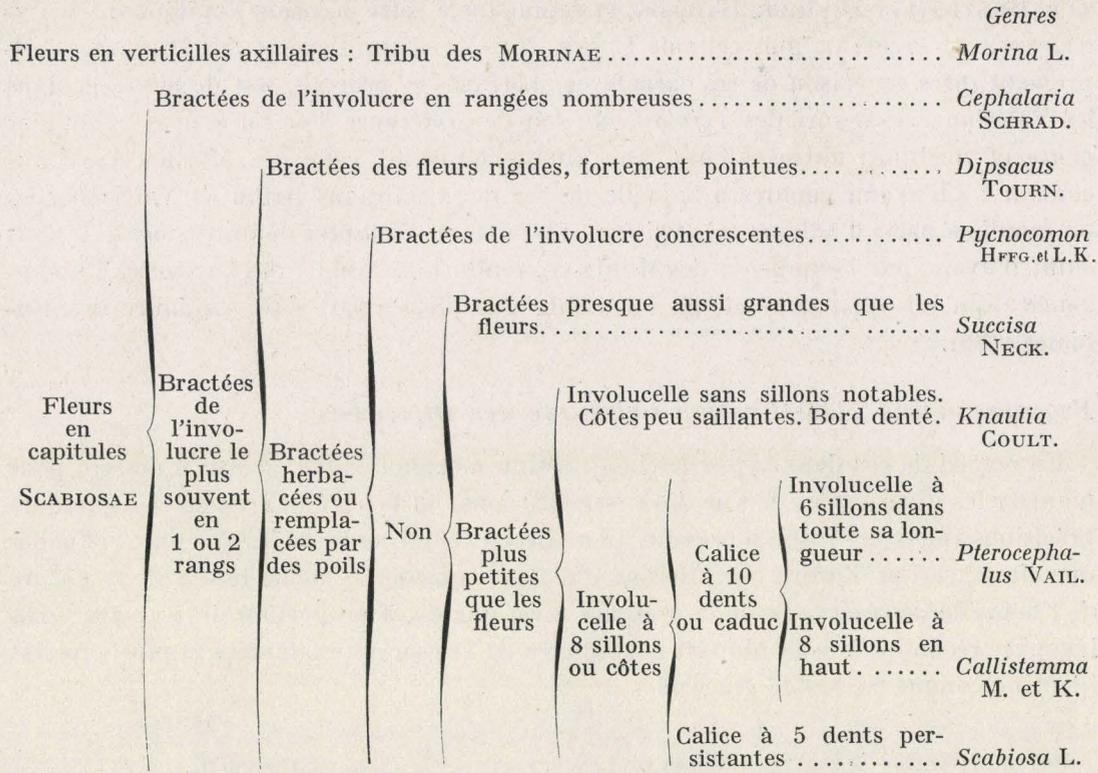
Les anciens botanistes, entre autres TOURNEFORT (83), LINNÉ (61), ADANSON (1), VAILLANT (84) et JUSSIEU (55), n'avaient fait qu'ébaucher la répartition des Dipsacées en genres et en espèces.

Excluant le genre *Morina*, TOURNEFORT et LINNÉ n'y admettaient que trois genres principaux : *Dipsacus*, *Scabiosa*, *Knautia*, et faisaient rentrer dans le genre *Scabiosa* à la fois les *Cephalaria* et les *Pterocephalus*. Ce dernier fut érigé en genre distinct par ADANSON, qui intégra les *Morina* et les *Triplostegia* dans sa première section de Dipsacées (1). Ce fut DE CANDOLLE qui, en 1830 (19), établit le premier les bases de la classification actuelle en deux tribus, SCABIOSAE et MORINAE, classification que l'autorité de son auteur a maintenue jusqu'à nos jours, sans autres changements que le démembrement du genre *Scabiosa* en plusieurs genres distincts (*Scabiosa L. pro parte*, *Succisa*, *Callistemma* et *Pycnocomon*) et l'exclusion faite par HOECK en 1902 (51) du genre *Triplostegia* WALL. qui fut alors rattaché aux Valérianacées, comme l'avait déjà fait DE CANDOLLE en 1830.

Le tableau suivant (page 123), emprunté à HOECK (*in* ENGLER) (38), rassemble les éléments d'un premier type de classification en genres basé sur la nature et le nombre de bractées de l'involucre, les caractères de l'involucelle ne venant qu'en ligne secondaire.

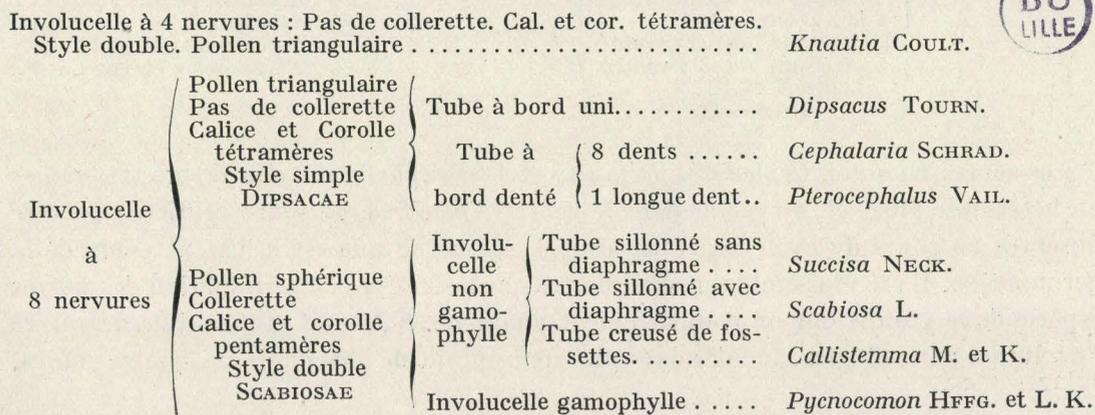
On voit que la classification proposée par HOECK aboutit à rapprocher du genre *Scabiosa* le genre *Pterocephalus* qui est plutôt affine au genre *Cephalaria*, et inversement qu'elle en sépare le genre *Pycnocomon*, en réalité plus voisin des Scabieuses que des *Succisa* ou des *Knautia*.

CLASSIFICATION DES DIPSACACÉES, d'après HOECK (in ENGLER et PRANTL).



Dans une analyse critique de la classification des Dipsacées, VAN TIEGHEM (86), subordonnant au contraire tous les caractères génériques à la forme de l'involucelle et au nombre de pièces du périanthe, qui sont, selon lui, les traits fondamentaux de la famille, établit un second type de classification séparant nettement, d'une part le genre *Knautia*, d'autre part la tribu des DIPSACAE et celle des SCABIOSAE et divisant ainsi la famille en trois groupes assez distincts.

CLASSIFICATION DES DIPSACACÉES, d'après VAN TIEGHEM.



Quant au genre *Morina*, à l'encontre de plusieurs systématiciens, entre autres COULTER, BENTHAM et HOOKER, BAILLON, et reprenant à cette occasion l'opinion de TOURNEFORT, son créateur, puis celle de LINNÉ, VAN TIEGHEM l'exclut des Dipsacées proprement dites en raison de ses caractères aberrants et propose, soit de le placer dans les Valérianacées à côté des *Triplostegia*, soit de préférence d'en faire, avec ce dernier genre et quelques autres affines, une famille nouvelle, celle des Morinacées. Et il conclut : « L'avenir montrera laquelle de ces deux solutions (tribu de Valérianacées ou famille à part) d'ailleurs très voisines, il convient d'adopter définitivement. Il nous suffit d'avoir, par l'expulsion des MORINAE, rendu à la famille des Dipsacées l'homogénéité qui lui appartient et qui lui assure une place à part dans l'alliance des Rubiales » (86).

Esquisse d'une classification chimique des Dipsacées.

En regard de ces deux types de classification morphologique, choisis à dessein pour montrer les divergences de vue des systématiciens, on peut, à la lumière des quelques précisions apportées jusqu'à présent, au moins en ce qui concerne les glucides, ébaucher une classification d'ordre biochimique qui tient compte en même temps de la nature de l'holoside de réserve et de la présence ainsi que de la proportion du principe amer lévogyre reconnu dans la plupart des espèces de Dipsacées examinées et plusieurs fois identifié comme véritable glucoside.

		GENRES	
Pas d'hétéroside lévogyre : MORINAE			<i>Morina</i> L.
Un hétéroside lévogyre	1 ^{er} groupe :		
	Forte proportion d'hétéroside surtout dans les akènes murs	Pigment vert dans les akènes.	<i>Knautia</i> COULT.
	Hétéroside disparaissant au cours de la germination	Non. Genres.	{ <i>Dipsacus</i> TOURN. <i>Cephalaria</i> SCHRAD. <i>Pterocephalus</i> VAIL.
DIPSACAE			
DIPSACÉES pr. DITES	2 ^e groupe		
	Faible proportion d'hétéroside, au moins dans les akènes mûrs	Genres.	{ <i>Succisa</i> NECK. <i>Scabiosa</i> L. <i>Callistemma</i> M. et K. <i>Pycnocomon</i> HFFG et L. K.
	Hétéroside disparaissant au cours de la Fructification		
	SCABIOSAE		

Les genres *Knautia*, *Cephalaria*, *Dipsacus* et *Pterocephalus* ont des akènes très riches en hétéroside amer et, au moins dans le genre *Cephalaria*, où son évolution a pu être observée au cours du cycle végétatif annuel, cet hétéroside est utilisé au cours de la germination. Il est vraisemblable d'admettre que les graines en germination des autres espèces de ce groupe ont un comportement analogue. S'il avait été possible de suivre l'évolution annuelle des glucides dans un représentant de chacun de ces quatre genres,

peut-être aurait-on pu saisir les différences d'ordre biochimique qui les séparent. Signalons simplement que les graines de toutes les espèces étudiées du genre *Knautia* renferment dans leur amande un pigment vert liposoluble, ce qui sépare déjà ce genre des autres genres de la section.

Par contre, le genre *Scabiosa* et les genres voisins *Succisa* et *Callistemma* (sans doute aussi le genre *Pycnocomon*, qui n'est qu'un démembrement du genre *Scabiosa*), ne renferment plus que des traces d'hétéroside dans leurs akènes mûrs. La réserve est presque uniquement lipidique. La disparition des glucides solubles a pu être suivie au cours de la maturation des akènes dans une espèce typique du genre *Scabiosa*, à savoir *Sc. prolifera* L. Il y a des raisons de penser qu'il en est de même pour les espèces et les genres affines.

Comparaison entre la classification morphologique et la classification biochimique.

En confrontant les classifications morphologiques proposées par HOECK et par VAN TIEGHEM avec cette ébauche de classification biochimique, et si l'on veut bien attribuer un caractère discriminatif à la présence d'un hétéroside, on constate que la chimie penche nettement en faveur de la classification de VAN TIEGHEM, jusque dans le détail.

On aboutit tout d'abord à la séparation tranchée du genre *Morina* d'avec les autres Dipsacées, par l'absence totale de principe amer dans ses représentants qui ont pu être examinés. Ce genre étant exclu, les Dipsacées forment alors un groupe très homogène à la fois par la simplicité de leur réserve glucidique et par l'élaboration constante d'un hétéroside lévogyre qu'on trouve dans toutes les parties de la plante.

La séparation des vraies Dipsacées en trois groupes : *Knautia*, *Dipsacae* et *Scabiosae*, telle que la propose VAN TIEGHEM, est également appuyée par les considérations biochimiques. Le genre *Knautia* se placerait un peu à part par la présence d'un pigment vert liposoluble (peut-être chlorophyllien) dans les akènes mûrs. Les genres *Cephalaria*, *Dipsacus*, *Pterocephalus* forment une triade très homogène par toute leur physiologie. Ce sont les Dipsacées les plus riches en principes glucidiques, les plus évoluées de la série. Quant au genre *Scabiosa* et à ses subdivisions élevées maintenant au rang de genres autonomes, ils forment eux aussi une série très homogène par leurs caractères biochimiques.

La concordance entre ces deux modes de groupement générique est donc des plus satisfaisantes. Loin de moi la pensée de prétendre, à l'aide de quelques résultats d'ordre biochimique, trancher toute la question de la classification des Dipsacées. Cette tentative permet néanmoins d'éclairer la position systématique de ce groupe, de préciser ses véritables affinités avec les familles voisines et d'établir un canevas de travail pour des recherches plus approfondies portant sur d'autres constituants de la plante, et notamment les protides.

Cet essai aurait besoin de trouver un appui d'ordre caryologique par l'étude de la formule chromosomique des différentes espèces examinées. J'espère que cette re-

cherche établira le bien-fondé de mes conclusions et permettra en même temps de préciser l'origine phylogénétique des Dipsacées.

A la suite de VAN TIEGHEM, il paraît justifié de séparer nettement le genre *Morina* de l'ensemble du groupe des Dipsacées. Il ne m'appartient pas de définir s'il est légitime de l'intégrer avec le genre *Triplostegia* et quelques autres dans une famille distincte ou s'il faut le conserver provisoirement parmi les Dipsacées, mais il est au moins nécessaire d'en faire une tribu nettement séparée, sorte de transition entre les Dipsacées proprement dites et les Valérianacées.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Ce travail a été consacré à la biochimie des glucides de quelques Dipsacées du Proche-Orient, à l'étude d'un hétéroside extrait du *Cephalaria syriaca* L. (SCHRAD.) et à la recherche de cet hétéroside dans les akènes d'un certain nombre d'espèces de Dipsacées asiatiques et européennes.

De cette étude se dégagent les principales conclusions suivantes :

ÉTUDE BIOCHIMIQUE

Les essais biochimiques ont porté sur huit espèces annuelles ou pérennantes représentant cinq genres distincts, à savoir : *Cephalaria syriaca* L. (SCHRAD.), *C. joppica* SPRENG., *C. dipsacoides* BOISS., *Scabiosa prolifera* L., *Sc. paloestina* L., *Dipsacus laciniatus* L., *Pterocephalus plumosus* L. (COULT.), *Morina persica* L.

Nature et répartition des glucides :

1) Toutes les espèces examinées renferment, à côté des oses simples, un polyose dextrogyre qui est vraisemblablement partout du saccharose. Ce sucre a pu être obtenu plusieurs fois à l'état cristallisé. Il est toujours présent dans les feuilles et les tiges. Il est plus abondant dans les racines et les graines, où il constitue l'unique holoside de réserve. Au moment de la floraison, apparaît dans les feuilles un holoside transitoire d'indice voisin de 1200.

2) Qu'il s'agisse d'espèces annuelles ou pérennantes, on n'a pu déceler nulle part de fructoholoside, et pas davantage d'amidon (sauf à titre essentiellement transitoire dans la moelle de tige de *Cephalaria syriaca* L.).

3) A l'exception du *Morina persica* L., toutes les espèces étudiées contiennent un hétéroside amer lévogyre, dédoublable par l'émulsine, d'indice voisin de 210. Cet hétéroside se rencontre dans tous les organes, avec une abondance particulière dans les akènes mûrs des *Cephalaria*, des *Dipsacus* et des *Pterocephalus*, au point qu'on peut *a priori* le considérer comme un constituant accessoire de la réserve glucidique. Il est au contraire en faible quantité dans les akènes mûrs des *Scabieuses*.

Évolution des glucides au cours de la végétation annuelle.

On n'a examiné à ce point de vue que deux espèces, *Cephalaria syriaca* L. et *Scabiosa prolifera* L., considérées comme assez représentatives de chacun des deux groupes précédents.

1) Dans les organes végétatifs de ces deux espèces et dans les organes reproducteurs jusqu'à la période de fructification, l'évolution des glucides est assez comparable. Elle diffère par contre au cours de la maturation des akènes.

2) La proportion des oses simples varie en raison inverse de celle du saccharose. Ils s'accumulent dans les boutons floraux, diminuent lors de leur épanouissement, et se reforment au début de la fructification.

3) Le saccharose, synthétisé dans les feuilles, se condense déjà dans les tiges et s'accumule dans les racines durant la période végétative. Lors de la formation des capitules, il diminue dans les organes souterrains et se concentre dans les fleurs où il est utilisé partiellement au moment de leur épanouissement. Il s'accumule dans les fruits de Céphalaire pour y constituer une partie de la réserve des graines. Dans la Scabieuse, au contraire, il disparaît presque totalement au cours de la maturation des akènes.

4) L'hétéroside est manifestement élaboré dans les feuilles, proportionnellement à la quantité de réducteur présent. Il circule dans les tiges sans présenter de grandes fluctuations puis se concentre lentement dans les racines jusqu'à l'apparition des capitules. Il présente dès lors un comportement analogue à celui du saccharose. Chez la Céphalaire, il s'accumule dans les fruits mûrs et y constitue une partie importante du contingent glucidique soluble. Dans la Scabieuse, il disparaît en même temps que le saccharose au cours de la maturation des akènes, laissant place à des glucides de membrane (xyloholoside, arabinoholoside, galactoholoside).

Évolution des glucides au cours de la germination.

Dans la Céphalaire de Syrie, seule espèce étudiée à ce point de vue, toute la réserve glucidique soluble est épuisée au cours de la germination. On a pu suivre, en effet, aux différentes étapes de ce processus, la disparition simultanée du saccharose et de l'hétéroside accumulés dans les graines mûres. L'hétéroside est dédoublé en ses constituants sous l'influence d'un ferment hydrolysant dont l'activité se développe dès le début de la germination. Si la destinée de l'aglycone reste encore imprécisée, du moins peut-on affirmer que la fraction glucidique, en l'espèce le glucose *d*, est directement consommée par la plantule en développement.

Rôle de l'hétéroside au cours du cycle végétatif.

1) La destinée de l'hétéroside apparaît donc différente pour les deux espèces envisagées. Dans les deux cas cependant, il y a bien utilisation de cette substance au cours de l'évolution annuelle, mais c'est avant la période de vie ralentie dans le cas de la Scabieuse prolifère, lors de la reprise de la vie active dans le cas de la Céphalaire de Syrie, que se produit cette utilisation.

2) On est donc habilité à conclure que, chez ces deux Dipsacées, l'hétéroside ne saurait être considéré comme un déchet, mais que, par sa fraction glucidique, il se comporte, au moins partiellement, comme une substance de réserve, sans qu'on puisse encore entrevoir le rôle de la fraction aglyconique, faute de pouvoir saisir son mode de formation et ses transformations lorsqu'elle a été libérée par l'hydrolyse fermentaire.

ÉTUDE CHIMIQUE ET PHYSIOLOGIQUE DU CÉPHALAROSIDE

Le traitement d'environ un kilogramme d'akènes de *Cephalaria syriaca* L., délipidés à l'éther de pétrole, a fourni un extrait alcoolique qui a été soumis à différents essais en vue d'en isoler l'hétéroside décelé par voie biochimique.

Par une méthode d'extraction utilisant la précipitation à l'état de complexe plombique ammoniacal et l'adsorption sur charbon activé, on a obtenu par élution à l'alcool méthylique absolu un hétéroside amorphe qui a été ensuite purifié par redissolution dans le méthanol et précipitation à l'éther anhydre. Une dernière reprise par l'acétate d'éthyle a fourni un hétéroside purifié pour lequel est proposé le nom de « Céphalaroside. »

Propriétés physiques.

Le céphalaroside ainsi purifié est une poudre blanche microcristalline, anhydre, très hygroscopique, de saveur amère, fondant vers 208°-210°, très soluble dans l'eau et le méthanol, soluble dans l'alcool éthylique, très peu soluble dans l'acétone et l'acétate d'éthyle, insoluble dans l'éther, le chloroforme et les huiles végétales. Sa solution aqueuse présente une fluorescence bleu pâle en lumière ultra-violette filtrée. Son poids moléculaire, déterminé par l'indice de méthoxyle, est d'environ 376. Son pouvoir rotatoire en solution aqueuse est d'environ $-104^{\circ}73$. Son spectre d'absorption en ultra-violet le rapproche du méliatoside ou loganoside, ainsi que de l'hydroverbénalosite.

Propriétés chimiques.

La formule brute proposée pour le céphalaroside est : $C^{16}H^{24}O^{10}$.

Cet hétéroside n'est précipité ni par l'acétate neutre de plomb, ni par l'acétate basique de plomb, mais il est entraîné totalement par l'acétate de plomb ammoniacal à l'état de complexe d'où il peut être régénéré par l'acide sulfurique dilué.

Il prend une coloration rouge pourpre au contact de l'acide sulfurique pur et fournit diverses autres réactions colorées sans spécificité. Il n'est pas réducteur pour la liqueur de Fehling et ne se colore pas par le chlorure ferrique dilué.

On a caractérisé dans sa molécule : 1) un groupe méthoxy ; 2) une fonction lactone.

L'ouverture de cette fonction par les bases alcalines fournit des sels jaunes qui ne possèdent plus la saveur amère. L'amertume paraît donc liée à la fonction lactone.

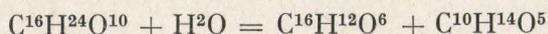
Le céphalaroside donne un dérivé tétra ou pentaacétylé à saveur amère, soluble

dans l'eau et l'alcool, fondant vers 130° et dont le pouvoir rotatoire est d'environ — 101°20. Le céphalaroside se comporte comme un composé saturé.

L'ensemble de ses propriétés chimiques le rapproche également du méliatoside.

Produits d'hydrolyse.

Par hydrolyse acide ou fermentaire, le céphalaroside se dédouble en une molécule de glucose *d* et une molécule d'aglycone, selon l'équation théorique :



L'hydrolyse acide fournit environ 48 % de glucose *d*.

L'aglycone reste en suspension dans le liquide d'hydrolyse sous forme d'un précipité granuleux jaunâtre. Il est extrait de ce liquide par l'éther. L'évaporation de la liqueur étherée fournit un produit résineux jaune, incristallisable. Par saponification du dérivé acétylé, on obtient un produit blanc jaunâtre d'apparence microcristalline, de saveur légèrement amère, peu soluble dans l'eau, soluble dans l'alcool, l'éther et le chloroforme. Cet aglycone fond vers 115° et présente un pouvoir rotatoire inconstant en raison de sa racémisation facile.

Il fournit la plupart des réactions colorées du céphalaroside.

Une étude préliminaire de cet aglycone a permis d'y caractériser au moins un oxhydrile acétylable et une fonction lactonique s'ouvrant sous l'action des alcalis en fournissant des sels jaunes. La détermination de son poids moléculaire, son analyse élémentaire et la recherche des autres groupes fonctionnels n'ont pas encore pu être entreprises, faute d'une quantité suffisante de substance.

Hydrolyse fermentaire.

Le céphalaroside est hydrolysable par différentes diastases ou complexes fermentaires. La vitesse d'hydrolyse varie avec le ferment utilisé. A 33° et à la concentration de 1 % en hétéroside, cette hydrolyse est complète en 20 jours avec l'émulsine des amandes, en 30 jours avec la poudre fermentaire de *Sterigmatocystis nigra* V. TGH., en 40 jours avec la poudre fermentaire de graines germées de *Cephalaria syriaca* L., en 45 jours avec la β glucosidase soluble de *St. nigra* V. TGH.

La proportion de sucre réducteur obtenu avec les différents ferments est comprise entre 45 et 48 % de glucose. L'indice de réduction enzymolytique varie entre 190 et 208.

RECHERCHE ET LOCALISATION DU CÉPHALAROSIDE CHEZ LES DIPSACÉES

Utilisation du céphalaroside par les moisissures.

Le *Sterigmatocystis nigra* V. TGH. se développe aisément sur les solutions nutritives minérales additionnées de céphalaroside, en milieu neutre ou acide. Le mycélium consomme totalement le glucose libéré par l'hydrolyse fermentaire, mais ne paraît pas utiliser l'aglycone qui reste en suspension dans le liquide d'hydrolyse.

Par une technique d'extraction simplifiée, on a recherché la présence du céphalaroside ou d'un hétéroside analogue dans 27 espèces de Dipsacées asiatiques ou européennes appartenant à huit genres distincts sur les neuf que compte la famille.

1) Toutes les espèces examinées, se rattachant aux genres *Cephalaria*, *Dipsacus*, *Pterocephalus*, *Knautia*, *Succisa*, *Scabiosa* et *Callistemma*, renferment, au moins dans leurs akènes mûrs ou en maturation, une substance amère lévogyre qui a pu être isolée dans la plupart des cas. D'après ses principaux caractères, cette substance paraît s'apparenter étroitement au céphalaroside extrait du *Cephalaria syriaca* L. et au scabioside isolé par BOURQUELOT et BRIDEL, puis par WATTIEZ, du *Scabiosa succisa* L. et de quelques autres Dipsacées européennes. Elle s'est révélée de nature hétérosidique et tributaire de l'émulsine chaque fois qu'elle a pu être soumise à l'action de ce ferment. Son indice de réduction enzymolytique varie entre 190 et 225.

2) Autant qu'on peut en juger par cet indice de réduction et la valeur du pouvoir rotatoire, l'identité entre le céphalaroside et le scabioside semble probable. Il n'est pas encore possible de se prononcer sur ce point, faute d'avoir pu comparer ces deux hétérosides. De nouvelles recherches seront donc nécessaires pour établir si toutes les vraies Dipsacées renferment ou non le même principe amer.

3) Les deux espèces étudiées appartenant au genre *Morina* L., à savoir le *Morina persica* L. et le *Morina longifolia* WALL., paraissent totalement dépourvues de principe amer lévogyre, aussi bien dans les organes végétatifs que dans les akènes mûrs ou en maturation. A ce point de vue, les *Morina* s'écartent donc nettement des autres Dipsacacées examinées dans cette étude.

4) Le céphalaroside, le scabioside ou le principe amer lévogyre peuvent être localisés dans les différents organes de Dipsacées à l'aide de la coloration rouge qu'ils prennent au contact de l'acide sulfurique pur. Cette coloration n'est pas spécifique, elle ne constitue donc qu'une indication sur la présence de ces substances.

Dans les organes végétatifs, la coloration se produit au niveau du parenchyme cortical ou chlorophyllien jusqu'à la limite des faisceaux libéro-ligneux.

Dans les akènes mûrs ou en maturation, la coloration intéresse exclusivement l'amande. Les téguments de la graine et le péricarpe ne renferment d'ailleurs pas de principe amer.

Cette réaction de localisation a permis de suivre la destinée de l'hétéroside dans la plantule au cours de la germination de la Céphalaire de Syrie.

5) Les akènes mûrs de toutes les plantes examinées, y compris celles du genre *Morina* L., renferment en outre une réserve lipidique dont la proportion oscille de 9,70 % à 24 % suivant les genres et les espèces. Les huiles qu'on peut en extraire sont dépourvues de saveur amère, l'hétéroside y étant totalement insoluble.

6) On signalera enfin, à titre accessoire, qu'on a pu déceler la présence d'une substance présentant les réactions de l'acide chlorogénique, dans les organes végétatifs et parfois dans les akènes de toutes les espèces examinées à ce point de vue. Cette substance est le plus souvent localisée au niveau du parenchyme cortical et du liber

dans la racine et la tige, au niveau du parenchyme chlorophyllien dans les limbes foliaires.

*CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES SUR LA CLASSIFICATION
DES DIPSACACÉES*

1) Une ébauche de classification chimique des Dipsacacées est présentée à la fin de ce travail. Elle met en valeur l'importance de l'hétéroside pour établir une distinction entre les genres et les espèces.

2) Une comparaison entre cette classification chimique et la classification morphologique aboutit à la concordance de ces deux classifications si l'on subordonne les caractères morphologiques à la nature et aux particularités de l'involucelle. Cette comparaison fait nettement ressortir l'homogénéité de la famille et la position aberrante du genre *Morina* L.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. — ADANSON (M.). Familles des plantes. Paris, 1763, Vincent édit., t. 2, p. 148-152.
2. — ASAHINA (Y.), ASANO (J.), TANASE (Y.) et UENO (Y.). Ueber das Gentiopikrin. *Ber. d. Chem. Ges.*, 1936, 69, p. 771.
3. — ASAHINA (Y.) et SAKMAI (Y.). Ueber das Gentiopikrin. *Ber. d. Chem. Ges.*, 1939, 72, p. 1534.
4. — BALLAND. Sur la présence des graines de *Cephalaria syriaca* dans les blés. *J. Ph. et Ch.*, 1888, 5^e sér., 18, p. 56.
5. — BEAUQUESNE (M^{lle}). Les substances polyuroniques. *Ann. Ph. Fr.*, 1946, 4, p. 71.
6. — BERTRAND (G.) et THOMAS. Guide pour les manipulations de chimie organique. 3^e éd. Paris, Dunod édit., 1919.
7. — BOISSIER (G.). Flora orientalis. 5 vol. 1867-1888. Lib. Georg, Bâle et Genève.
8. — BOUILLOT (J.). Appareil de laboratoire permettant de dessécher les matières organiques sans les altérer. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1923, 5, p. 266.
9. — BOURQUELOT (Em.). Les ferments solubles de l'*Aspergillus niger* V. TGH. *Bull. Soc. mycol.*, 1893, 9, p. 230.
10. — BOURQUELOT (Em.). Sur la recherche, dans les végétaux, des glucosides hydrolysables par l'émulsine. *J. Ph. et Ch.*, 1906, 6^e sér., 23, p. 369.
11. — BOURQUELOT (Em.). Sur l'emploi des enzymes comme réactifs dans les recherches de laboratoire. *J. Ph. et Ch.*, 1907, 25, p. 383.
12. — BOURQUELOT (Em.). Nouvelle contribution à la méthode biochimique de recherche dans les végétaux des glucosides hydrolysables par l'émulsine. Son application à l'étude des plantes employées en médecine populaire. *J. Ph. et Ch.*, 1910, 2, p. 241.
13. — BOURQUELOT (Em.) et BRIDEL (M.). Sur un nouveau glucoside hydrolysable par l'émulsine : la scabiosine. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1920, 2, p. 119 et *C. R. Ac. Sc.*, 1920, 170, p. 486.
14. — BOURQUELOT (Em.) et HÉRISSEY (H.). Sur l'origine et la composition de l'essence de benoîte, glucoside et enzyme nouveaux. *J. Ph. et Ch.*, 1905, 21, p. 481.
15. — BRAECKE (M^{lle}). Variations dans la composition du *Rhinanthus crista-galli* L., du *Melampyrum pratense* L. et du *Melampyrum arvense* L., au cours de la végétation d'une année. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1925, 7, p. 155.
16. — BRIDEL (M.). Sur la méliatine, glucoside nouveau retiré du Trèfle d'eau. *J. Ph. et Ch.*, 1911, 7^e sér., 4, p. 49, 97 et 161.
17. — BRIDEL (M.). Le rôle des glucosides dans les plantes. *Rev. gén. des Sc.*, 1936, 37, p. 138-139.
18. — CAHN (Th.), HOUGET (J.) et JACQUOT (R.). *Ann. Phys.*, 1933, 9, p. 205-244.
19. — CANDOLLE (A.-P. DE). *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis*. Parisiis, 1830, 4, p. 643.
20. — CARLES (J.). Chimisme et classification chez les Iris. Th. Doct. Sc. Paris, 1934.
21. — CARREZ (C.). Le ferrocyanure de potassium et l'acétate de zinc comme agents de défécation dans les urines. *Ann. Chim. anal.*, 13, p. 97.
22. — CHARAUX (Ch.). Sur l'acide chlorogénique. *J. Ph. et Ch.*, 1910, 2, p. 292.
23. — CHEYMOL (J.). Composition chimique de la racine de *Geum urbanum* L. Th. Doct. Univ. (Pharm.). Paris, 1927.

24. — CHEYMOL (J.). Le verbénalosite. Étude chimique et physiologique. Th. Doct. Sc. Nat., Paris, 1937.
25. — CHOLLET (M^{lle} M.-M.). Les fructosanes chez les Campanulacées. Th. Doct. Sc. Nat., Paris, 1942.
26. — COLIN (H.). Le saccharose dans la betterave. *Rev. gén. de Bot.*, 1916, 28, p. 369 et 1917, 29, p. 92, 94 et 126.
27. — COLIN (H.). Préparation facile d'une solution de sucrase très active. *Bull. Assoc. Chimistes Sucr. et Distill.*, 1917, 33, p. 85.
28. — COLIN (H.) et AUGEM (A.). La mannane des graines d'Iris. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1928, 10, p. 822.
29. — COMBES (R.). Recherches biochimiques expérimentales sur le rôle physiologique des glucosides chez les végétaux. *Rev. gén. de Bot.*, 1917, 29, p. 321 et 353 et 1918, 30, p. 187, 188, 190 et 197.
30. — COMBES (R.). La vie de la cellule végétale. 3 vol. 1927-1937. A. Colin édit., Paris, t. 2, p. 127-129 et t. 3, p. 88.
31. — COMBES (R.). La nutrition glucidique de la corolle. *C.R. Ac. Sc.*, 1936, 203, p. 1282.
32. — COSTES (H.). Flore descriptive et illustrée de la France. Paris, 1906.
33. — CUHEL (M.). *Pharm. Post.*, 1917, 50, p. 353.
34. — DELABY (R.) et SABETAY (S.). Évaluation, par acétylation pyridinée, de la teneur en alcools primaires et secondaires libres, en présence d'alcools tertiaires, dans les huiles essentielles. *Bull. Soc. Ch. France*, 1935 (5^e sér.), 2, p. 1716.
35. — DRAGGENDORF. Monographie des Inulin. Pétersbourg, 1870.
36. — DURAND (J.-F.). Sur la cryoscopie dans le camphre. *Bull. Soc. Ch.*, 1937, 4, p. 67.
37. — DUNSTAN (W. R.) et SHORT (F. W.). A new glucoside from *Strychnos vomica*. *Pharm. Journ.* (3), 14, 1883, 84, p. 1025.
38. — ENGLER A. et PRANTL (K.). Die natürlichen Pflanzenfamilien. Édit. Engelmann, Leipzig, 1897, 4, p. 182.
39. — FRIEDRICH (A.), traduit par LACOURT (A.). La pratique de la microanalyse organique quantitative. Paris, Dunod édit., 1939, p. 270.
40. — GORIS (A.). Localisation et rôle des alcaloïdes et des glucosides chez les végétaux. Th. Agrégation. Paris, 1914.
41. — GORIS (A.) et LIOT (A.). Pharmacie galénique. Paris, Masson édit., 1939, t. 1, p. 198.
42. — GRIGNON (E.). Étude comparée des caractères anatomiques des Lonicérinées et des Astéroïdées. Th. Doct. Univ. (Phcie). Paris, 1884.
43. — GUÉNOT (Simone). Étude comparée de la défécation de quelques milieux synthétiques en vue du dosage du glucose. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1943, 25, p. 227.
44. — GUIGNARD. Sur la métamorphose des glucosides cyanhydriques pendant la germination. *C.R. Ac. Sc.*, 1908, 147, p. 1023.
45. — HARLAY (M.). Le saccharose dans les organes végétaux souterrains. Th. Doct. Univ. (Phcie). Paris, 1905, p. 86.
46. — HÉRISSEY (H.). Recherches sur l'émulsine. Th. Doct. Univ. (Phcie). Paris, 1889.
47. — HÉRISSEY (H.). Les glucosides. *Bull. Soc. chim.*, 1923, 33, p. 349 et suiv.
48. — HÉRISSEY (H.). Sur une méthode permettant l'extraction facile de certains hétérosides. *J. Pharm. et Ch.*, 1932, 16, p. 513.
49. — HÉRISSEY (H.) et LEBAS (C.). Utilisation de l'aucuboside par l'*Aspergillus niger* V. TGH. *J. Pharm. et Ch.*, 1911, 3, p. 521.
50. — HÉRISSEY (H.) et FLEURY (P.). Synthèse du méthyl-d-glucoside β par une poudre fermentaire d'*Aspergillus niger* V. TGH. *Ann. Ph. Fr.*, 1947, 5, p. 521.
51. — HOECK. Verwandtschaftsbeziehungen der Valerianaceen und Dipsaceen. *Bot. Jahrb. f. Syst.*, 1902, 31, p. 405.
52. — ... Index Kewensis plantarum phanerogamarum. Oxford, 1893, et ses suppléments.
53. — JACOBS (W. A.), HOFFMANN (A.) et GUSTUS (E. L.). The association of the double bond with the lactone group in the cardiac aglycones. *J. of biol. Chem.*, 1930, 88, p. 518.

54. — JAEGER. Morphologie et biologie florale chez les Dipsacacées. Colmar, Imp. Alsatia, 1938, p. 33.
55. — JUSSIEU (A.-L. DE). Genera plantarum. Paris, 1789.
56. — KARRER (W.). Darstellung eines krystallisierter herzwirksamen Glycosides aus *Convallaria maialis* L. *Helv. Chim. Acta*, 1929, 12, p. 506.
57. — KLEIN (W.). Contribution à l'étude histologique et chimique du pistil, du fruit et des organes végétatifs des Dipsacées. Th. Doct. Univ. (Phcie). Strasbourg, 1931.
58. — KORSAKOFF (M^{lle}). Recherches sur la variation des matières grasses, des sucres et de la saponine au cours de la maturation des graines de nielle. *C.R. Ac. Sc.*, 1912, 155, p. 844.
59. — KRUGER (E. R.) et TOLLENS (B.). *Z. Rüb.*, 1896, 33, p. 21.
60. — LEBEAU (P.) et COURTOIS (G.). Traité de pharmacie chimique. Masson édit., Paris, 1947, t. 4, p. 3970.
61. — LINNÉ (C.). Species plantarum. 1^{re} édit. Stockholm, 1753, 1, p. 97.
62. — MAQUENNE (L.). Les sucres et leurs principaux dérivés. Paris, 1900, G. Carré et Naud, édit.
63. — MERZ (K. W.) Uber das Cichoriin und die Konstitution des Asculins und des Scopolins. *Arch. der Ph.*, 1932, 270, p. 476.
64. — MERZ (K. W.) und KREBS (K. G.). Zur Keuntnis des Loganins. *Arch. der Ph.*, 1937, 275, p. 217.
65. — MOYSE-MIGNON (M^{lle} H.). Recherches sur quelques Méliacées africaines et sur leurs principes amers. Th. Doct. Univ. (Phcie), 1942, p. 77.
66. — NÉTIEN (G.). Recherches sur les glucides et les saponines des Caryophyllacées. Th. Doct. Sc. Nat., Lyon, 1935.
67. — NEUBERG et SANEYOSHI. *Biochem. Zeits.*, 1911, 36, p. 56-59.
68. — NEYRON (C.). Recherches sur le principe fermentescible des tubercules d'Asphodèle. Th. Doct. Sc. Paris, 1930, p. 14 et 15.
69. — OXFORD (A. E.). Note on the use of dioxane as solvent in the determination of molecular weights by cryoscopic method. *Bioch. J.*, 1934, 28, p. 1325.
70. — PARIS (R.). Action de diverses substances organiques volatiles sur quelques glucidases *in vivo* et *in vitro*. Th. Doct. Sc. Nat., Paris, 1935, p. 190.
71. — PLANCHON et COLLIN. Les drogues simples d'origine végétale. Paris, Doin, édit., 1896, t. 2, p. 87.
72. — POLITIS (J.). Sur la distribution de l'acide chlorogénique dans le règne végétal. *Rev. gén. de Bot.*, 1947, 54, p. 245.
73. — POUSSET (M.). Des modifications glucidiques de quelques organes de végétaux sous l'influence des vapeurs de chloroforme, d'éther et de benzène. Th. Doct. Univ. (Phcie). Paris, 1933, p. 44-45.
74. — RABATÉ (J.). Contribution à l'étude chimique et physiologique de l'Amélanchier (*Ame-lanchier vulgaris* MOENCH.). Th. Doct. Univ. (Phcie). Paris, 1931.
75. — RABATÉ (J.). Contribution à l'étude biochimique des Salicacées. Th. Doct. Sc. Nat. Paris, 1934, p. 24.
76. — RABATÉ (J.). Détermination de la teneur en OH des glucosides par acétylation pyridinée. *Bull. Soc. Chim.*, 1936, 3, p. 2 et 113.
77. — RAMART-LUCAS (M^{me}). Relations entre la structure des molécules organiques et leur spectre d'absorption dans l'ultra-violet. *Bull. Soc. Chim.*, 1932, 51, p. 289.
78. — RAMART-LUCAS (M^{me}) et RABATÉ (J.). Structure des hétérosides d'après leur spectre d'absorption. *C.R. Ac. Sc.*, 1933, 196, p. 1493.
79. — SOLACOLU (Th.) et WELLES (E.). Mise en évidence des saponines dans les graines de quelques Graminées. *C.R. Soc. Biol.*, 1933, 112, p. 1007.
80. — TAMMES (T.). Dipsacon und Dipsacotin, ein neuer Chromogen und ein neuer Farbstoff der Dipsacae. *In Rec. Trav. Bot. Neerl.*, 1908, 5, p. 57.
81. — TANRET (Ch.). Sur la picéine, glucoside des feuilles de Sapin épicéa (*Pinus picea*). *C. R. Ac. Sc.*, 1894, 119, p. 80.
82. — TANRET (G.). Sur le glucoside des graines de coronille *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1934, 16, p. 943.

83. — TOURNEFORT (J.-P. DE). *Corollarium Institutiones rei herbariae*, 1703, p. 48.
84. — VAILLANT. Classe des Dipsacées. Histoire de l'Académie royale des Sciences, 1722, p. 172.
85. — VAN DER HAAR (H. W.). *Biochem. Zeits.*, 1917, 81, p. 263.
86. — VAN TIEGHEM (Ph.-V.). Remarques sur les Dipsacées. *Ann. Sc. nat. Bot.*, 9^e série, 10, 1909, p. 148 à 200.
87. — VINTILESCO (J.) et IOANID (N. I.). Sur les glucosides de quelques espèces du genre *Vinca* et sur les variations de leurs proportions au cours de la végétation. Les vincosides. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1933, 15, p. 63.
88. — WATTIEZ (M. N.). Sur la présence de méthylglucoside β dans les feuilles de *Scabiosa succisa* L. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1925, 7, p. 917.
89. — WATTIEZ (M. N.). Contribution à l'étude biochimique des Dipsacées. Présence dans *Dipsacus arvensis* L. de méthylglucoside β et de scabioside. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1926, 8, p. 501.
90. — WATTIEZ (M. N.). Contribution à l'étude biochimique des Dipsacacées. *Journ. Pharm. Belg.*, 1929, 11, p. 597 et 613.
91. — WATTIEZ (M. N.) et STERNON (F.). *Éléments de Chimie végétale*. Paris, 1939, Masson édit.
92. — WEHMER (C.). *Die Pflanzenstoffe*. Iéna, 1911, p. 748.

INDEX DES ESPÈCES CITÉES

N. B. — Cet index ne comporte que les références principales concernant les espèces citées.

	Pages
<i>Callistemma brachiatum</i> BOISS.....	114
<i>Cephalaria alpina</i> ROEM. et SCH.....	7 et 105
— <i>dipsacoides</i> BOISS. et BAL.....	52 et 104
— <i>joppica</i> SPRENG.....	50 et 103
— <i>pilosa</i> BOISS. et HUET.....	107
— <i>procera</i> L.....	6
— <i>setosa</i> BOISS.....	107
— <i>stellipilis</i> BOISS.....	107
— <i>syriaca</i> SCHRAD.....	14 à 34
— <i>tatarica</i> GMEL.....	106
<i>Dipsacus arvensis</i> L.....	7 et 56
— <i>laciniatus</i> L.....	54 et 107
— <i>pilosus</i> L.....	6 et 7
— <i>sylvestris</i> HUDS.....	6, 7, 54 et 109
<i>Knautia arvensis</i> L.....	7 et 116
— <i>hybrida</i> ALL. (COULT.).....	117
— <i>orientalis</i> L.....	117
<i>Morina persica</i> L.....	60 et 118
— <i>longifolia</i> WALL.....	118
<i>Pycnocomon rutoefolium</i> HFFG. et L. K.....	101
<i>Pterocephalus involucratuS</i> SIBTH. et S. M.....	110
— <i>plumosus</i> L. (COULT.).....	56 et 110
<i>Scabiosa argentea</i> L.....	112
— <i>atropurpurea</i> L.....	114
— <i>australis</i> WULF.....	116
— <i>caucasica</i> M. B.....	7 et 114
— <i>columbaria</i> L.....	7 et 113
— <i>graminifolia</i> L.....	114
— <i>paloestina</i> L.....	58 et 111
— <i>prolifera</i> L.....	35 à 49
— <i>succisa</i> L.....	6, 67 et 115
— <i>ucranica</i> DESF.....	112
<i>Succisella inflexa</i> KLUX.....	116
<i>Succisa australis</i> REICHB.....	116
— <i>pratensis</i> MOENCH.....	6, 67 et 115
<i>Triplostegia glandulifera</i> WALL.....	5 et 122

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION	5
PREMIÈRE PARTIE	
ÉTUDE BIOCHIMIQUE DE QUELQUES DIPSACÉES DU PROCHE-ORIENT	
Technique des essais biochimiques.....	9
Premiers essais biochimiques. — Identification des glucides. — Choix des espèces étudiées.....	12
CHAPITRE PREMIER	
LES GLUCIDES DE LA CÉPHALAIRE DE SYRIE.....	14
I. — Répartition des glucides dans les différents organes.....	14
II. — Évolution des glucides au cours de la végétation annuelle.....	17
III. — Évolution des glucides au cours de la germination.....	26
Résumé et conclusions.....	33
CHAPITRE II	
LES GLUCIDES DE LA SCABIEUSE PROLIFÈRE.....	35
I. — Répartition des glucides dans les différents organes.....	35
II. — Évolution des glucides au cours de la végétation annuelle.....	38
III. — Étude des glucides de membrane.....	46
Résumé et conclusions.....	48
CHAPITRE III	
LES GLUCIDES DE QUELQUES AUTRES DIPSACÉES DU PROCHE- ORIENT.....	50
Les glucides de <i>Cephalaria joppica</i> SPRENG.....	50
— <i>Cephalaria dipsacoides</i> BOISS. var. <i>libanotica</i>	52

Les glucides de <i>Dipsacus laciniatus</i> L.	54
— <i>Pterocephalus plumosus</i> L. (COULT.)	56
— <i>Scabiosa palaestina</i> L.	58
— <i>Morina persica</i> L.	60
Conclusions.	62

CHAPITRE IV

LOCALISATION DE L'HÉTÉROSIDE DANS QUELQUES DIPSACÉES DU PROCHE-ORIENT.	63
I. — Localisation de l'hétéroside dans la Céphalaire de Syrie.....	63
II. — Localisation de l'hétéroside dans quelques autres espèces	65

DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE CHIMIQUE ET BIOCHIMIQUE DU CÉPHALAROSIDE

CHAPITRE PREMIER

EXTRACTION ET PURIFICATION DU CÉPHALAROSIDE.....	67
I. — Traitement initial des akènes.....	67
II. — Essais d'extraction de l'hétéroside.....	67
III. — Technique d'extraction du céphalaroside.....	69
IV. — Purification du céphalaroside.....	70

CHAPITRE II

PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES DU CÉPHALAROSIDE.	72
I. — Propriétés physiques.....	72
II. — Analyse élémentaire et composition centésimale.	76
III. — Propriétés chimiques.....	77

CHAPITRE III

HYDROLYSE ACIDE DU CÉPHALAROSIDE.....	83
I. — Technique.....	83
II. — Nature des produits d'hydrolyse acide : sucre et aglycone.	84
III. — Hypothèses sur la constitution du céphalaroside.....	87

CHAPITRE IV

HYDROLYSES FERMENTAIRES DU CÉPHALAROSIDE.....	89
I. — Hydrolyse par l'émulsine des amandes. — Sucre et aglycone.....	89
II. — Hydrolyse par la poudre fermentaire de graines germées de <i>Cephalaria syriaca</i> L. (SCHRAD.).....	90
III. — Hydrolyse par la diastase soluble de <i>Sterigmatocystis nigra</i> V. TGH.....	92
IV. — Hydrolyse par la poudre fermentaire de <i>Sterigmatocystis nigra</i> V. TGH.	93
V. — Comparaison des résultats d'hydrolyse.....	93

CHAPITRE V

ESSAIS DE CULTURE DU <i>STERIGMATOCYSTIS NIGRA</i> V. TGH. SUR LES SOLUTIONS DE CÉPHALAROSIDE. — UTILISATION DU CÉPHALAROSIDE PAR LES MOISSURES.....	95
I. — Essai de culture du <i>St. nigra</i> V. TGH. sur simple solution aqueuse de céphalaroside	95
III. — Essais de culture du <i>St. nigra</i> V. TGH. sur milieux nutritifs enrichis en céphalaroside, en milieu neutre ou acide.....	96

TROISIÈME PARTIE

LES HÉTÉROSIDES DES AUTRES DIPSACÉES.
CHIMISME ET CLASSIFICATION CHEZ LES DIPSACÉES

CHAPITRE PREMIER

RECHERCHE ET EXTRACTION DES HÉTÉROSIDES DANS QUELQUES ESPÈCES DE DIPSACÉES ASIATIQUES ET EUROPÉENNES.....	101
Technique	102
Recherche et extraction des hétérosides dans les espèces suivantes : <i>Cephalaria joppica</i> SPRENG. (p. 103), <i>Cephalaria dipsacoides</i> BOISS. et BAL. (p. 104), <i>Cephalaria alpina</i> ROEM. et SCH. (p. 105), <i>Cephalaria tatarica</i> GMEL. (p. 106), <i>Cephalaria pilosa</i> BOISS. et HUET (p. 107), <i>Cephalaria setosa</i> BOISS. (p. 107), <i>Cephalaria stellipilis</i> BOISS. (p. 107), <i>Dipsacus laciniatus</i> L. (p. 107), <i>Dipsacus sylvestris</i> HUDS. (p. 109), <i>Pterocephalus plumosus</i> L. (COULT.) (p. 110), <i>Pterocephalus involucratus</i> SIBTH. et SM. (p. 110), <i>Scabiosa prolifera</i> L. (p. 111), <i>Scabiosa paloestina</i> L. (p. 111), <i>Scabiosa argentea</i> L. (p. 112), <i>Scabiosa columbaria</i> L. (p. 113), <i>Scabiosa atropurpurea</i> L. (p. 114), <i>Scabiosa caucasica</i> M. B.	

(p. 114), *Scabiosa graminifolia* L. (p. 114), *Callistemma brachiatum* BOISS. (p. 114), *Succisa pratensis* MOENCH (p. 115), *Succisa australis* REICHB. (p. 116), *Knautia arvensis* L. (p. 116), *Knautia orientalis* L. (p. 117), *Knautia hybrida* ALL. (p. 117), *Morina persica* L. (p. 118), *Morina longifolia* WALL. (p. 118).

Conclusions. 119

CHAPITRE II

CHIMISME ET CLASSIFICATION CHEZ LES DIPSACÉES.	121
I. — Affinités avec les familles voisines.	121
II. — Classification et subdivision en genres. — Comparaison entre la classification morphologique et la classification chimique.	122
RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES.	127
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.	133
INDEX DES ESPÈCES CITÉES.	137
TABLE DES MATIÈRES.	139

DEUXIÈME THÈSE
PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

ZOOLOGIE : **Toxicité du céphalaroside sur les Protozoaires, les Poissons et les Mammifères.**

GÉOLOGIE : **Esquisse géologique du Liban.**

VU ET APPROUVÉ :

Lille, le 14 janvier 1949

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

P. PRUVOST.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Lille, le 14 janvier 1949.

*Pour le recteur de l'Académie de Lille,
Le Vice-Président du Conseil de l'Université,
Doyen de la Faculté des Lettres,*

HERMAN.

Au moment de mettre uu point final à la publication de ce mémoire, je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à M. le Professeur HOCQUETTE qui a bien voulu examiner cette thèse avec bienveillance et me faire l'honneur d'en présider la soutenance.

J'adresse mes remerciements à MM. HEIM DE BALSAC, WATERLOT et LESPAGNOL, qui ont accepté de siéger à ses côtés comme membres du jury.

Je remercie bien sincèrement M. le Professeur R. PARIS de l'accueil qu'il m'a réservé dans son laboratoire de la Faculté de Pharmacie de Paris, où j'ai pu effectuer de nombreuses déterminations physico-chimiques, et qui m'a bien des fois apporté le secours de son expérience.

M^{me} RAMART-LUCAS, professeur à la Sorbonne, a eu la grande obligeance de se charger de la détermination des courbes d'absorption en ultra-violet. Qu'elle veuille bien trouver ici l'expression de ma respectueuse gratitude.

Je remercie enfin mes collaborateurs de la Faculté française de Médecine et de Pharmacie de Beyrouth, M. J. ADÈS et M^{lle} R. KHAZEN, mes frères Jean-Marie, André et Maurice LYS, dont l'aide m'a été des plus précieuses au cours de ces recherches, ainsi que tous ceux qui m'ont apporté leur concours dans l'exécution de ce travail ou qui ont mis à ma disposition le matériel indispensable à cette étude.

Je suis particulièrement reconnaissant à M. Louis DUBERTRET, Ingénieur Civil des Mines, Maître de recherches au C. N. R. S., d'avoir accepté l'insertion de ce travail dans les Notes et Mémoires de Sciences Naturelles du Moyen-Orient. Je dois aussi de sincères remerciements à M. le Professeur LUTAUD, Directeur du Laboratoire de Géographie physique de la Sorbonne, pour son obligeante assistance au cours de l'impression et de la révision des épreuves.

Le R. P. DUPRÉ LA TOUR, Chancelier de la Faculté Française de médecine et de pharmacie de Beyrouth, a bien voulu m'accorder une généreuse subvention pour contribuer à la publication de ce mémoire. Je lui exprime ici ma respectueuse gratitude pour l'intérêt qu'il a marqué ainsi à mes recherches.

