

*Bibliothèque numérique*

**medic @**

**Goris, Albert. - Localisation et rôle des alcaloïdes et des glucosides chez les végétaux. Thèse présentée au concours d'agrégation (Section d'histoire naturelle et de pharmacie).**

**1914.**

***Paris : impr. de la Cour d'appel***

***Cote : P30908***

P 30908  
(1914) 7

UNIVERSITÉ DE PARIS

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

THÈSE

PRÉSENTÉE AU CONCOURS D'AGRÉGATION

du 4 Mai 1914.

SECTION D'HISTOIRE NATURELLE ET DE PHARMACIE

LOCALISATION ET RÔLE

DES

ALCALOÏDES ET DES GLUCOSIDES

CHEZ LES VÉGÉTAUX

PAR

Albert GORIS

Docteur ès sciences naturelles,  
Pharmacien des Hôpitaux de Paris,  
Chef du Laboratoire de micrographie, au Laboratoire d'études et d'analyses  
des Produits pharmaceutiques et hygiéniques.



PARIS

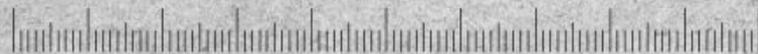
IMPRIMERIE DE LA COUR D'APPEL

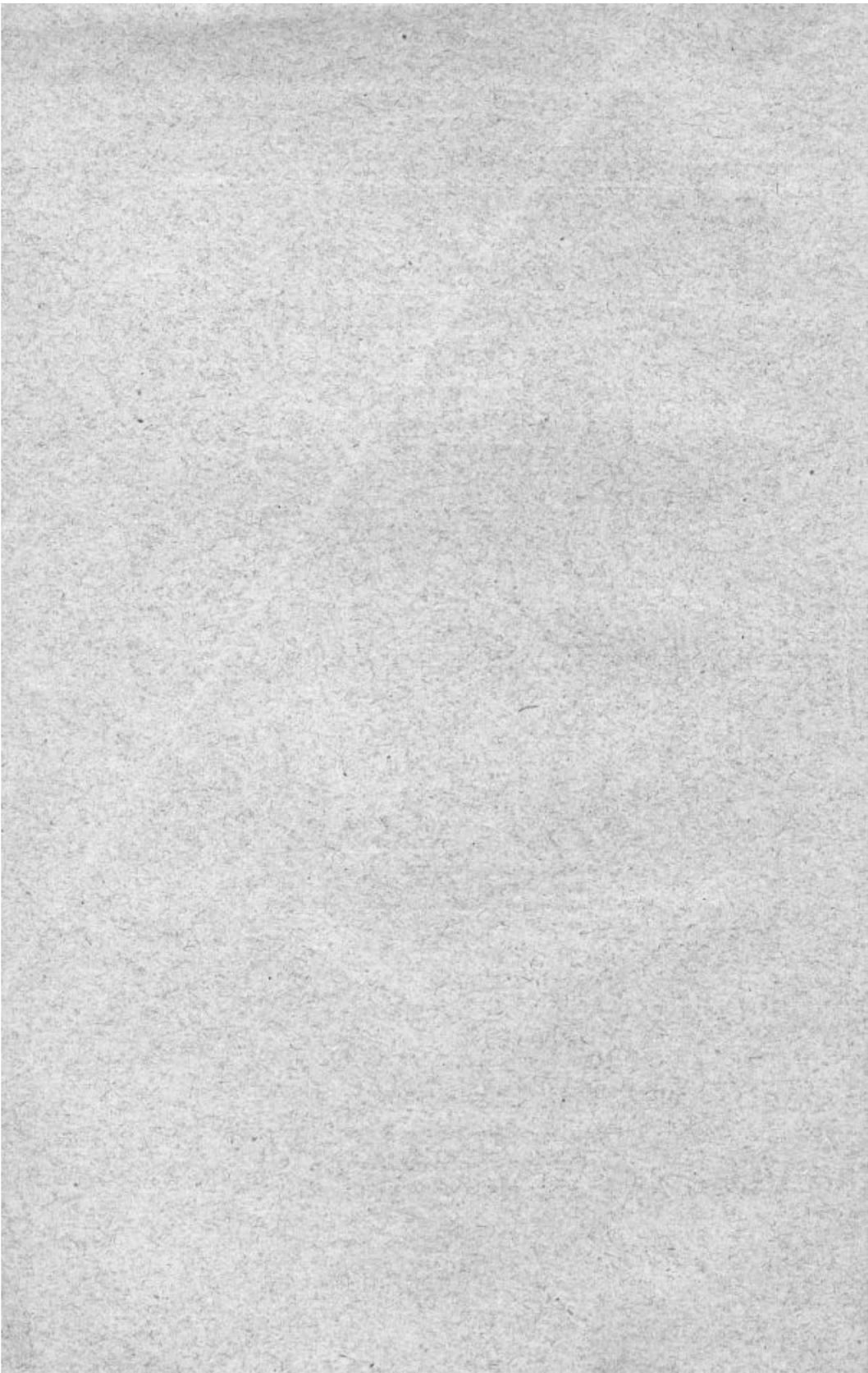
L. MARETHEUX, Directeur

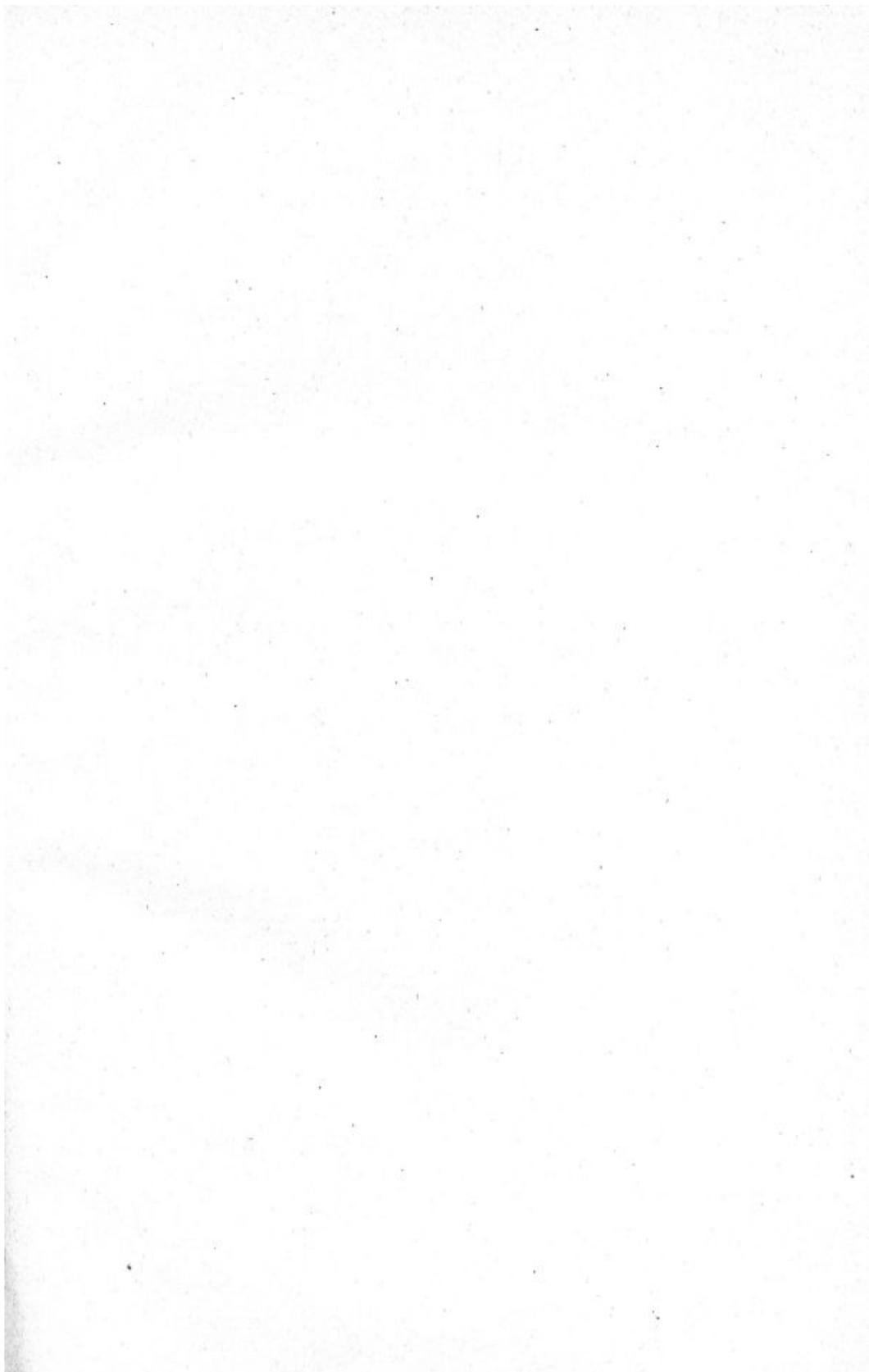
1, RUE CASSETTE, 1

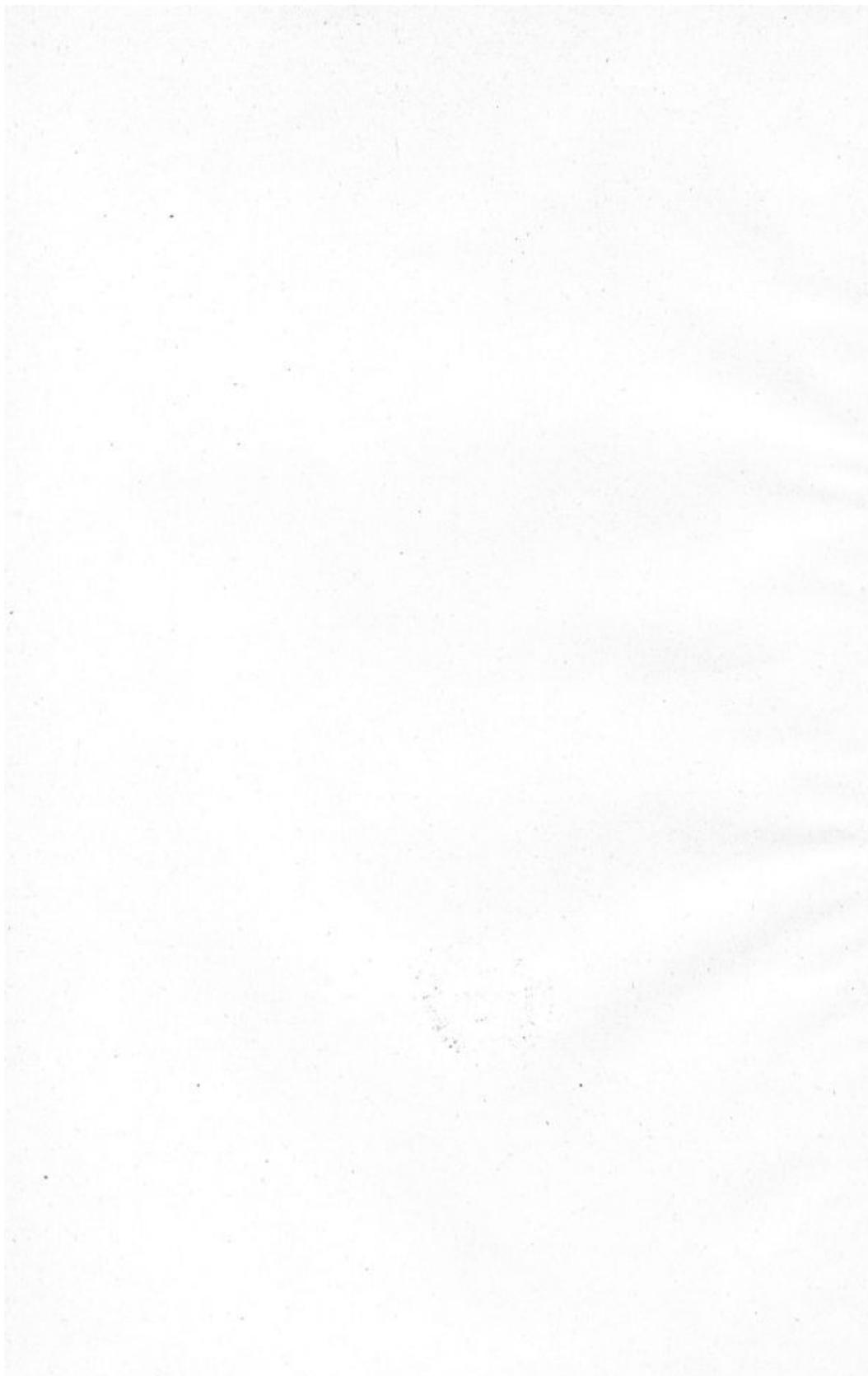
1914

1914  
7-8  
non









UNIVERSITÉ DE PARIS

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

---

# THÈSE

PRÉSENTÉE AU CONCOURS D'AGRÉGATION

*du 4 Mai 1914.*

SECTION D'HISTOIRE NATURELLE ET DE PHARMACIE

---

## LOCALISATION ET RÔLE

DES

# ALCALOÏDES ET DES GLUCOSIDES

## CHEZ LES VÉGÉTAUX

PAR

**Albert GORIS**

Docteur ès sciences naturelles,  
Pharmacien des Hôpitaux de Paris,  
Chef du Laboratoire de micrographie, au Laboratoire d'études et d'analyses  
des Produits pharmaceutiques et hygiéniques.



PARIS

IMPRIMERIE DE LA COUR D'APPEL

L. MARETHEUX, Directeur

1, RUE CASSETTE, 1

1914

## SECTION HISTOIRE NATURELLE ET PHARMACIE

---

*Juges du Concours* . . . . . } MM.  
GUIGNARD, *Président*.  
BOURQUELOT  
RADAIS  
COUTIÈRE  
PERROT  
JADIN  
BRUNTZ

*Juges suppléants* . . . . . } MM.  
GRIMBERT  
GUÉRIN  
LUTZ  
HÉRISSEY

*Secrétaire* . . . . . M. MUSSON

*Candidats* . . . . . } MM.  
A. GORIS  
A. JUILLET  
L. LAUNOY  
P. LAVIALLE  
A. SARTORY

---

## INTRODUCTION

---

C'est aux recherches des pharmacologues que nous devons en grande partie les résultats actuellement acquis en chimie végétale, et, plus particulièrement, la connaissance des glucosides et des alcaloïdes. Désireux d'assurer à leurs remèdes une efficacité plus grande, depuis longtemps les guérisseurs, plus tard les thérapeutes, d'abord de façon empirique, puis à l'aide de méthodes peu à peu plus scientifiques, ont cherché à extraire du végétal qui guérit les principes bienfaisants, à les concentrer sous un petit volume. Ce souci utilitaire a donné naissance d'abord aux extraits médicamenteux.

Plus tard s'est dégagée la notion de la complexité des extraits. On a reconnu qu'un extrait n'est pas une chose simple, mais un mélange de nombreuses substances qui ne sont pas toujours toutes, ni parfaitement connues. Et, partant directement des plantes mêmes, ou de leurs extraits, on a isolé un grand nombre de principes immédiats. Lorsque le nombre de ces principes s'est accru, leur répartition en plusieurs familles chimiques est apparue nécessaire : glucosides, alcaloïdes, corps gras, sucres, acides, bases organiques, etc., et, parmi ces groupements chimiques, deux ont attiré plus spécialement l'attention des pharmacologues : les *glucosides*, les *alcaloïdes*.

Entre ces deux sortes de composés, aucun rapprochement chimique n'est possible : les *glucosides* dérivent des hydrates de carbone; leur hydratation par les ferments naturels ou par les acides libère de leur molécule un ou plusieurs sucres et d'autres composés appartenant aux fonctions chimiques les plus diverses. Les *alcaloïdes* sont des substances azotées à caractère basique, se combinant aux acides pour donner des sels presque toujours bien définis. Mais, entre ces deux classes de corps, il existe un lien d'un tout autre ordre, et qui n'a rien d'arbitraire ou d'artificiel. Glucosides et alcaloïdes sont considérés, au même titre, comme

les *principes actifs* médicamenteux essentiels des végétaux. Cela explique pourquoi la plus grande partie des travaux consacrés aux glucosides et alcaloïdes a été l'œuvre de pharmacologues. Et cette similitude d'intérêt pratique et d'ordre pharmacodynamique entre les deux classes de corps justifie leur rapprochement dans une étude comme celle que nous entreprenons aujourd'hui, car on pourrait s'étonner, à juste titre, de voir traiter successivement et d'après des plans identiques deux classes de corps dont les individus présentent de telles différences au point de vue chimique.

La découverte d'un nombre de plus en plus élevé de glucosides ou d'alcaloïdes, la répartition de ces composés chez les végétaux les plus différents, dans les familles botaniques les plus éloignées, a naturellement amené l'esprit des chercheurs à poser, puis à résoudre un problème nouveau. Cette fois, il ne s'agit plus de discuter la valeur médicamenteuse du principe chimique, ni d'en réaliser un mode d'extraction plus avantageux. Le savant ne se place plus au point de vue de l'utilité des nouveaux composés *pour l'homme* ; il se demande quelle est leur signification au *point de vue du végétal* qui les renferme. Le problème n'est pas celui des applications thérapeutiques : c'est celui de la *signification biologique*, pour le végétal, du glucoside ou de l'alcaloïde. D'où viennent-ils ? Où, comment, à l'aide de quels matériaux se sont-ils formés ? Où vont-ils ? Quel est leur avenir ? Sont-ils utiles au végétal, et comment ? Malgré les recherches nombreuses faites pour répondre à ces interrogations, nous sommes encore loin de posséder la réponse désirée. Mais les résultats sont assez nombreux pour qu'il soit intéressant de les exposer dès maintenant, dans leur ensemble, assez contradictoires aussi, pour qu'il soit nécessaire de les discuter.

Les idées actuelles une fois exposées, on verra combien elles sont encore hypothétiques, combien de nouvelles expériences sont encore nécessaires, qui nous permettront de choisir entre les solutions proposées. Et l'on verra aussi que ces recherches offrent suffisamment d'intérêt pour tenter de nouveau les chercheurs.

En raison des relations certaines des glucosides avec les hydrates de carbone, des relations possibles des albuminoïdes avec les alcaloïdes, fournir aux questions posées une réponse définitive, ce sera résoudre, en grande partie, le problème des cycles de l'azote et du carbone.

Notre travail comporte deux parties bien distinctes, qui correspondent à deux points de vue très différents, mais qui se complètent l'un l'autre. Exposer, d'après les travaux antérieurs, par quelles méthodes on peut localiser un glucoside ou un alcaloïde, dans quels organes, dans quels tissus, dans quelles cellules on les rencontre, donner en résumé la technique et les résultats des nombreuses recherches de localisation qui ont été faites, c'est se placer au point de vue *statique*.

La discussion du rôle des glucosides et des alcaloïdes suppose l'étude préalable de leur mode de formation, de leurs variations quantitatives, de leurs migrations, dans les conditions naturelles ou dans des conditions anormales. C'est là un point de vue essentiellement *dynamique*, auquel nous nous placerons dans la deuxième partie de cette étude.

Le plan que nous nous proposons de suivre est le suivant :

Les alcaloïdes et les glucosides seront, naturellement, étudiés séparément et successivement. Après les alcaloïdes, nous étudierons, en appendice, les gluco-alcaloïdes ; à la suite des glucosides proprement dits, seront exposées nos connaissances concernant les glucosides azotés (cyanogénétiques et sénévoliques) et les saponines. Dans chacune de ces deux parties l'ordre suivi sera le même.

I. — Nous rappellerons les faits essentiels d'ordre chimique qui se rapportent aux principes considérés et qui permettent de les définir.

II. — Nous étudierons alors la « localisation » des alcaloïdes ou des glucosides. Après un exposé des méthodes générales utilisées, nous traiterons successivement chacune des familles botaniques. Nous exposerons les techniques employées et les résultats obtenus, pour chaque principe et chaque espèce étudiés, par les divers auteurs. Développant à dessein ce chapitre, nous ajouterons, dans un grand nombre de cas, des observations personnelles où nous discuterons, s'il y a lieu, la valeur d'une méthode ou les résultats, quelquefois contradictoires, déjà obtenus. Nous pensons ainsi constituer une documentation aussi complète que possible, où se trouveront groupées toutes les connaissances acquises sur le sujet jusqu'en 1914, et qui pourra, nous l'espérons, rendre service à ceux qui s'occupent de ces questions.

III. — Abordant la seconde partie de notre étude, nous y traite-

rons d'abord du *mode de formation* des alcaloïdes ou des glucosides, exposant les hypothèses proposées et les expériences, trop rares, sur lesquelles elles s'appuient.

IV. — Les chapitres suivants donneront le résultat des expériences qui se rapportent aux *variations* quantitatives et aux *migrations* des « principes actifs » chez les végétaux, soit au cours de la végétation dans certaines conditions de culture, soit encore à la suite des modifications d'éclairement, de nutrition, ou de traumatismes, d'annélations, de greffes. Nous nous efforcerons dans ce chapitre de ne donner que des expériences et de discuter seulement la valeur documentaire de celles-ci, réservant pour le chapitre suivant la discussion des théories qui s'en dégagent.

V. — Nous essaierons enfin de dégager des résultats précédemment exposés une idée aussi précise que possible du *rôle biologique* des alcaloïdes et des glucosides, afin de choisir entre les deux principales hypothèses qui ont été émises à ce sujet, celle qui nous paraîtra, sinon bien établie, du moins conforme à la plupart des faits observés.

On sait, en effet, que les alcaloïdes et les glucosides ont été envisagés soit comme des substances utilisées dans la nutrition de la plante, soit comme des produits de déchet, éliminés du cycle des phénomènes nutritifs.

VI. — A la fin de ce volume, nous donnerons les tables qui permettront de le consulter au laboratoire : tables alphabétiques des espèces botaniques, des planches et des figures, des auteurs cités, etc. Nous savons trop, par expérience personnelle, combien ce soin ajoute à la valeur d'un livre scientifique, pour négliger de le prendre.

---

# LOCALISATION ET RÔLE

## DES ALCALOÏDES ET DES GLUCOSIDES

### CHEZ LES VÉGÉTAUX



## ALCALOÏDES VÉGÉTAUX

### PREMIÈRE PARTIE

#### LOCALISATION DES ALCALOÏDES

#### I

#### CARACTÈRES ET CONSTITUTION DES ALCALOÏDES

Les alcaloïdes retirés des végétaux sont des corps azotés, présentant des propriétés basiques plus ou moins accentuées. Les uns, comme la *Nicotine*, bleussent fortement le papier de tournesol, déplacent les sels métalliques, se comportent en un mot à la façon de l'ammoniaque; d'autres, comme la *Caféine*, la *Trigonelline*, la *Pipérine*, sont presque neutres et ne forment avec les acides que des sels peu stables. Entre ces deux extrêmes, on trouve une série de corps de basicité décroissante.

Par extension du mot, certains auteurs ont rangé dans ce groupe toutes les substances organiques douées de propriétés basiques. C'est là une conception toute rationnelle, puisqu'elle fait dépendre la classification de composés chimiques d'une propriété d'ordre chimique et non d'un caractère tiré de leur origine.

En réalité, sous l'expression « Alcaloïdes », on désigne surtout les bases retirées des végétaux. Ces bases n'y existent pas à l'état libre;

elles y sont combinées aux acides (malique, citrique, méconique, etc.) ou aux tanins.

La plupart de ces bases sont solides et non volatiles; quelques-unes présentent des propriétés diamétralement opposées. Cette différence semble être liée à leur composition chimique; les alcaloïdes qui ne renferment pas d'oxygène sont généralement liquides et volatils: *Conicine*, *Nicotine*, *Spartéine*; les alcaloïdes oxygénés sont solides et non volatils; toutefois, la *Pilocarpine*, qui renferme de l'oxygène, est une base liquide, mais elle n'est pas volatile; il en est de même de la *Pelletiérine* et de l'*Isopelletiérine*.

En plus de leur réaction basique, les alcaloïdes présentent un certain nombre de propriétés générales.

Les solutions aqueuses de leurs sels sont précipitées par le *tanin*. Ils donnent avec tout un groupe de réactifs: *iodure de potassium iodé*, *iodure de potassium et de mercure* ou de *bismuth*, *acide silicotungstique*, etc., des sels doubles ou des précipités peu solubles. Le *chlorure d'or*, le *chlorure de platine* donnent des sels correspondant généralement à la formule  $(X)PtCl^2H^2$  et  $(X)AuCl^2H$ . L'acide picrique et l'acide picronique donnent également des sels cristallisés.

Les alcaloïdes, à quelques exceptions près, sont solubles dans les solvants neutres: benzène, éther, éther de pétrole, chloroforme, alcool, alcool amylique et insolubles dans l'eau. Leurs sels, au contraire, sont généralement solubles dans l'eau et insolubles dans les autres solvants, sauf l'alcool.

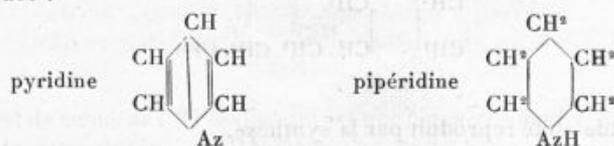
Ils sont presque toujours doués d'un pouvoir rotatoire; quelques-uns sont inactifs; la *Bétaïne*, la *Pipérine*, la *Papavérine*, la *Narcotine*, etc., doivent cette inactivité à l'absence de carbone asymétrique dans leur molécule; l'*Atropine*, la *Lupanine* sont inactives par compensation, mais on peut les dédoubler en deux composés actifs. Les sels d'alcaloïdes possèdent parfois un pouvoir rotatoire inverse de celui des alcaloïdes générateurs.

Au point de vue de leur fonction chimique, les alcaloïdes se comportent comme des *bases tertiaires* (la majeure partie des alcaloïdes), des *bases secondaires* (alcaloïdes liquides); des *sels d'ammonium quaternaire* (*Bétaïne*, *Trigonelline*).

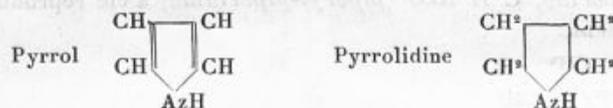
La constitution chimique de ces corps est encore peu connue. Le nombre des bases végétales dépasse deux cents; nous ne connaissons la constitution que de cinquante d'entre elles et parmi ces dernières, vingt au plus ont pu être reproduites synthétiquement.

Toutefois, d'importants résultats ont été acquis dans ces dernières années, et nous sommes déjà loin de la classification de KÖNIGS (1888), qui n'admettait dans le groupe des alcaloïdes que les composés donnant de la pyridine par décomposition ultime.

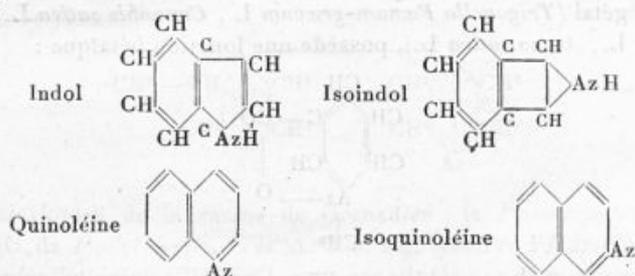
On sait très bien actuellement qu'à côté du noyau **pyridique**, ou du même noyau réduit, **pipéridique**, générateurs d'un grand nombre d'alcaloïdes :



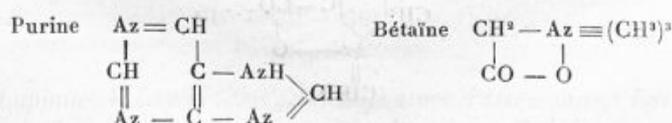
on peut rencontrer le noyau **pyrrolique** et le noyau réduit **pyrrolidique** :



Ces deux noyaux peuvent être associés (\*) avec le noyau benzénique, et l'on a ainsi les noyaux **indolique** ou **isoindolique** et les noyaux **quinoléique** ou **isoquinoléique** que l'on trouve également chez les alcaloïdes :



A côté de ces noyaux pyridiques ou pyrroliques simples ou associés, il convient de citer le noyau **purique** et le noyau **bétaïque** qui constituent la trame d'un certain nombre d'alcaloïdes :

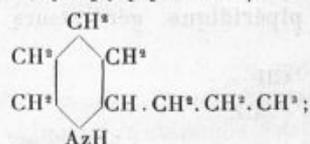


Nous donnerons ici une liste des alcaloïdes les plus connus avec leur formule de constitution, ce qui nous aidera à mieux suivre les développements concernant la genèse de ces composés.

#### 1° Alcaloïdes dérivant de la pyridine :

1. Dans certains alcaloïdes, les deux noyaux peuvent être réunis dans la même molécule, sans toutefois être accolés; c'est le cas de la *Nicotine*.

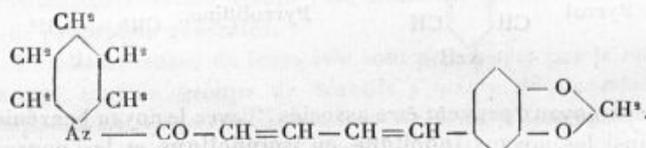
La *Conicine*  $C^8H^{11}Az$  ( $\alpha$  propylpipéridine) :



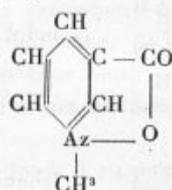
cet alcaloïde a été reproduit par la synthèse.

De constitution voisine, citons : la *Méthylconicine*, la *Conhydrine*, la *Pseudo-Conhydrine*, les *Conicéine*  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ .

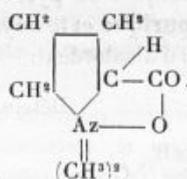
La *Pipérine*,  $C^{17}H^{19}AzO^2$  (*pipéryl-pipéridine*) a été reproduite synthétiquement :



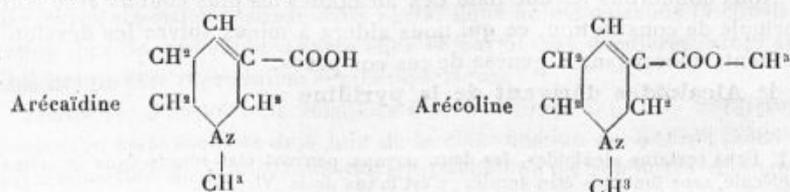
La *Trigonelline*,  $C^7H^7AzO^2 + H^2O$ , alcaloïde très répandu dans le règne végétal (*Trigonella Fœnum-græcum* L., *Cannabis sativa* L., *Pisum sativum*, L., *Avena sativa* L.), possède une fonction bêtaïque :



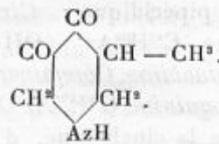
La *Stachydrine*,  $C^7H^7AzO^2$ , de constitution analogue, formée d'un noyau pyrrolidique et bêtaïque associés :



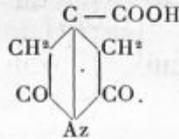
L'*Arécaïdine*,  $C^7H^{11}AzO^2$ , et l'*Arécoline* qui est l'éther méthylique de cette base à fonction acide :



La *Guvacine* est également une base de nature pyridique :

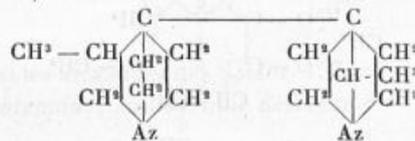


Il en est de même de l'*Arécaïne* qui est une *Guvacine* méthylée à l'azote.  
L'*acide citrazinique*,  $\text{C}^8\text{H}^8\text{AzO}^4$ , retiré de la betterave, a la constitution suivante :

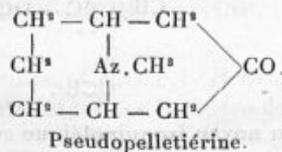


La *Cytisine*,  $\text{C}^{11}\text{H}^{14}\text{Az}^2\text{O}^3$ , que l'on rencontre chez les *Genista*, *Ulex*, *Cytisus*, *Baptisia*, *Sophora*, *Anagyris*, a une constitution qui n'est pas encore entièrement connue.

La *Spartéine*,  $\text{C}^{16}\text{H}^{20}\text{Az}^2$  serait constituée par deux noyaux pipéridiques (MOUREU et VALEUR) :



Les alcaloïdes de la racine de Grenadier : la *Pseudopelletiérine*,  $\text{C}^9\text{H}^{15}\text{AzO}$ , la *Pelletiérine*,  $\text{C}^9\text{H}^{15}\text{AzO}$  et son isomère l'*Isopelletiérine*, la *Méthylpeltiérine*  $\text{C}^9\text{H}^{17}\text{AzO}$ , sont constitués par deux noyaux pipéridiques accolés :



La *Lupinine*, la *Lupinidine* (<sup>4</sup>), les *Lupanines*, l'*Harmaline*, l'*Harmine*, les alcaloïdes des Strychnées : *Strychnine* et *Brucine*, ceux des *Aconitum* et des *Veratrum* : *Aconitine*, *Picro-aconitine*, *Pseudo-aconitine*, *Japaconitine*, *Vératrine*; *Vératridine*, *Sabadilline*, *Jervine*, *Pseudojervine*, renferment le noyau pyridique.

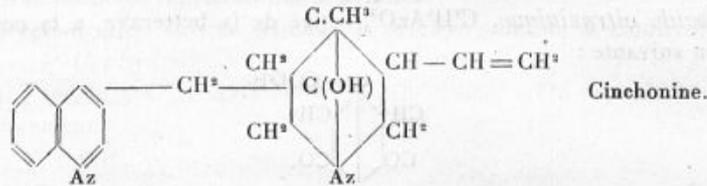
2° **Alcaloïdes dérivant de la quinoléine :**

Parmi les alcaloïdes dérivant de la quinoléine, il faut citer les nom-

1. D'après WILLSTETTER, la *Lupinine* serait identique à la *Spartéine*.

breux alcaloïdes des quinquinas, qui sont constitués par les deux noyaux quinoléique et pipéridique ; *Cinchonine*, *Cinchonidine*,  $C^{20}H^{21}Az^3(OH)$ ; *Cupréine*  $C^{20}H^{20}Az^3(OH)^2$ ; *Quinine*, *Quinidine*  $C^{20}H^{21}Az^3(OH)(OCH^3)$ ; *Quinamine*, *Conquinamine*  $C^{20}H^{21}Az^3O^2$ ; *Cinchonamine*  $C^{20}H^{21}Az^3O$ ; *Hydroquinine*  $C^{20}H^{20}Az^3O^2$ , *Aricine*  $C^{22}H^{23}Az^3O^4$ .

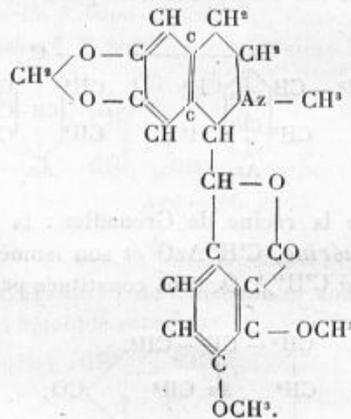
La formule probable de la cinchonine, d'après MILLER et RORDE, nous montre la relation de ces deux noyaux :



La quinine n'en diffère que par la présence d'un groupement méthoxy dans le noyau quinoléique.

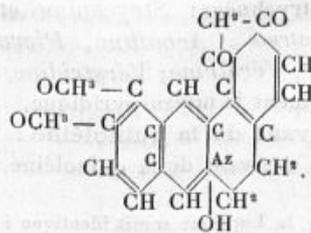
### 3° Alcaloïdes dérivant de l'isoquinoléine :

Dans ce groupe, nous citerons l'*Hydrastine*,  $C^{21}H^{21}AzO^6$  :



qui est constituée par un noyau isoquinoléique combiné à l'acide opianique.

La *Berbérine*,  $C^{20}H^{19}AzO^4HO$  :

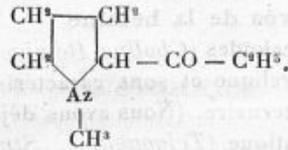


## ALCALOÏDES VÉGÉTAUX

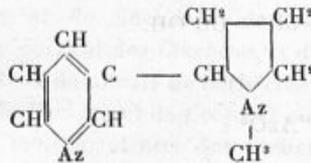
La *Canadine*, la *Papavérine*, la *Narcotine* ont des analogies étroites avec la *berbérine* et l'*hydrastine*. L'*Hydrocotarnine*, l'*Oxynarcotine*, la *Gnoscopine* sont également voisins de ces alcaloïdes.

### 4° Alcaloïdes dérivant du pyrrol :

L'*Hygrine*,  $C^8H^{13}AzO$  est l'alcaloïde le plus simple qui existe. On le trouve dans la coca, à côté d'alcaloïdes de structure beaucoup plus complexe :

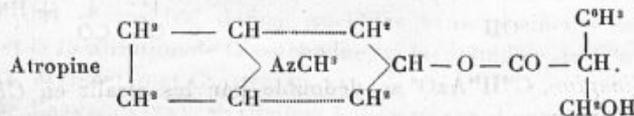


La *Nicotine*,  $C^{10}H^{14}Az^2$  est constituée par les deux noyaux pyridique et pyrrolidique; c'est une *pyridylméthylpyrrolidine* :

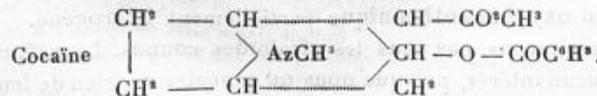


L'*Atropine* et les alcaloïdes des Solanées: *Hyoscyamine*, *Pseudohyoscyamine*, *Apoatropine*, *Belladonine* dérivent d'un noyau pyrrolidique-pipéridique.

Il en est de même d'un alcaloïde voisin : la *Scopolamine*.



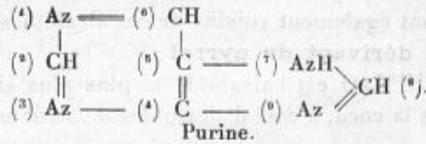
La *Cocaïne*, la *Cinnamylcocaïne*, la *Benzoylcegonine*, les *Truxillines* présentent avec les alcaloïdes des Solanées des relations très étroites.



### 5° Alcaloïdes dérivés de la purine :

Ces alcaloïdes sont : l'*Hypoxanthine* (*oxypurine*. 6), la *Xanthine* (*dioxypurine* 2. 6), la *Théophylline* (1. 3 diméthyl 2,6 dioxypurine), la *Théobromine* (3. 7. diméthyl 2, 6 dioxypurine), la *Caféine* (1, 3, 7 triméthyl 2,6. dioxypurine)

Ils possèdent tous le noyau de la purine oxydé et méthylié en différents endroits :

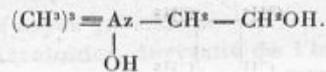


#### 6° Alcaloïdes dérivés de la bétaine :

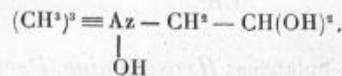
Un petit nombre d'alcaloïdes (*Choline*, *Bétaïne*, *Muscarine*, *Sinapine*) n'ont pas de noyau cyclique et sont caractérisés par un groupement central ammonium quaternaire. (Nous avons déjà vu que certains alcaloïdes à chaîne aromatique (*Trigonelline*, *Strychnine*) possèdent en plus un noyau bétaique).

Parmi ces alcaloïdes, citons :

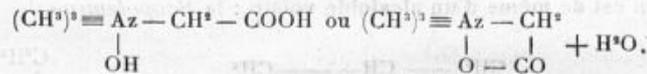
La *Choline*,  $C^5H^{10}AzO^2$  :



La *Muscarine*,  $C^5H^8AzO^2$  :



La *Bétaïne*,  $C^5H^9AzO^2$  :



La *Sinapine*,  $C^{16}H^{20}AzO^2$  se dédouble par les alcalis en *Choline* et *acide sinapique*.

#### 7° Alcaloïdes dérivés du phénanthrène :

La *Morphine*,  $C^{17}H^{19}AzO^2$  et les alcaloïdes voisins : *Codéine*, *Thébaïne*, *Pseudomorphine* ont une constitution chimique complexe. Ils dérivent d'un noyau **oxyphénanthrénique** partiellement hydrogéné.

Nous ne citerons pas tous les alcaloïdes connus. Leur énumération n'aurait aucun intérêt, puisque nous ne connaissons rien de leur constitution. Beaucoup donnent bien, sous l'action des réactifs énergiques, des dérivés du pyrrol ou de la pyridine, mais leur étude est encore trop peu avancée pour que nous puissions en tirer quelques renseignements.

## II

### LOCALISATION DES ALCALOÏDES (1)

#### I. — HISTORIQUE

Les premières recherches concernant la localisation des principes actifs (glucosides et alcaloïdes) chez les végétaux ne remontent guère à plus de quarante ans.

Nous laisserons de côté les observations d'HOWARD (2), qui a signalé des cristaux de quinine et de cinchonine dans les couches les plus externes du parenchyme cortical des *Cinchona*, et de BÆDEKER (3) qui, en 1869, a obtenu des cristaux de nitrate de berbérine dans les membranes cellulaires des racines de *Berberis* et de *Cocculus palmatus* D. C.; ce sont de simples remarques isolées, et non des recherches guidées par le souci d'établir une méthode générale de localisation.

Ce fut BORSCHOW (4) qui, le premier, en 1874, essaya d'appliquer les méthodes microchimiques à la détermination exacte du siège des alcaloïdes et des glucosides. Il étudia, en particulier, la répartition de la vératrine.

OTTOMAR HERMANN (5) (1876), dans une thèse qui a surtout traité de la localisation des glucosides, donna quelques renseignements sur la berbérine et la localisation de la colchicine, si bien étudiée dans la suite par ERRERA, MAISTRIAU et CLAUTRIAU.

En 1879, ESSMANOFFSKY (6) attribue à l'existence d'un alcaloïde les sphéro-cristaux qui se forment sous l'influence de l'alcool dans les « canaux mucilagineux » (!) des tiges et rhizomes de *Canna*.

1. Par le mot « localisation » on désigne tout à la fois la manipulation à laquelle on a recours et le résultat de cette manipulation.

2. HOWARD : The quinology of the East Indian plantations. London 1869, 7, pl. II.

3. BÆDEKER : Chemisch-physiologische Untersuchung einiger Stoffe aus der Familie der Menispermeeen. *Ann. d. Chem. u. Pharm.*, 69, 37-62, 1849.

4. BORSCHOW : Beiträge zur Histochemie der Pflanzen. *Bot. Zeit.*, 32, 17-25, 33-40, 1874.

5. OTTOMAR HERMANN : Nachweis organ. Verbindungen in vegetabil. Geweben. *Dissert.*, Leipzig, 1876.

6. JOS. ESSMANOFFSKY : Untersuchung der Saftgänge und der ihnen vorkommenden eigenthümlichen Niederschläge bei *Canna*. *Mittheil. der Warschauer Univ.* N° 2, 1879; analyse : *Just. bot. Jahresb.*, 7, 1. Abth. 10, 1879.

Enfin LINDT (1), en 1884, étudia la répartition de la brucine et de la strychnine dans les graines de *Strychnos*, et crut que ces alcaloïdes se trouvaient dans les membranes cellulaires de l'albumen.

Ce nouveau genre de recherches ne semblait donc pas devoir prendre un bien grand essor. Ce fut l'honneur d'ERRERA (2) de tracer une voie toute nouvelle aux recherches microchimiques.

Son premier travail, paru en 1886, avec la collaboration de CLAUTRIAU et de MAISTRIAU, montre tout l'intérêt qui s'attache aux résultats de semblables investigations, et sa méthode générale de localisation fut le point de départ d'un nombre considérable de travaux.

Si l'on ne peut, au même titre qu'à Borscow, lui attribuer la paternité de ces nouvelles méthodes, il faut convenir qu'il en fut l'artisan le plus convaincu et le plus laborieux, et son esprit vivifia une idée bien près de s'éteindre sans avoir produit les résultats escomptés. La méthode d'ERRERA, MAISTRIAU, CLAUTRIAU fut féconde, et ce n'est pas de 1874, mais de 1887, que date véritablement la naissance des essais de localisation des alcaloïdes.

Dans cette voie parurent aussitôt de nouveaux travaux. Nous y rattacherons ceux de ROSOLL (3) (1889) sur la localisation de la conicine, strychnine, ésérine, colchicine. Toutefois, l'auteur ne semble pas avoir eu connaissance de la nouvelle technique instituée par ERRERA et ses élèves.

En 1889, de WÈVRE (4) étudia la répartition de l'atropine dans la Belladone et de l'alcaloïde des Narcisses (5). De WILDEMANN (6) signale la présence d'un alcaloïde, non isolé, dans les Orchidacées.

CLAUTRIAU (7), qui avait déjà abordé, en 1888, au lendemain de l'ap-

1. LINDT : Ueber d. mikrochem. Nachweis von Brucin u. Strychnin. *Zeitschr. f. wiss. Mikrosk.*, **1**, 237-240, 1884.

2. ERRERA, MAISTRIAU, CLAUTRIAU : Premières recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes dans les plantes. *Bull. Soc. belge Microsc.*, **12**, 5-46, 1885-86, réimprimé *Recueil Inst. bot. ERRERA*, **2**, 147-183, 1906.

3. A. ROSOLL : Beiträge zur Histochemie der Pflanzen. *Zeitschr. f. wiss. Mikrosk.*, **1**, 463, 1884. — Beiträge zur Histochemie der Pflanzen. *Sitzungsber. der math.-naturw. Kl. d. Wiss. Wien. Akad.*, **89**, 137-150, 1884. — Ueber den mikrochemischen Nachweis der Glycoside und der Alkaloide in den vegetab. Geweben. *Jahresb. der niederöster. Landesrealgymnasiums zu Stockerau*, **25**, 1889-1890. — Ueber den mikrochemischen Nachweis der Curcumins und Conicins in den vegetabil. Geweben, *Jahresb. der niederöster. Landes-Oberrealschule, Wiener-Neustadt*, **29**, 1894. Analyse : *Bot. Centralbl.*, **60**, 174-175, 1894.

4. A. DE WÈVRE : Localisation de l'atropine. *Bull. Soc. belge de Microsc.*, **14**, 19-21, 1887. *Recueil Inst. bot. ERRERA*, **2**, 233-235, 1906.

5. A. DE WÈVRE : Sur l'alcaloïde des Narcisses. *Bull. Soc. belge Microsc.*, **13**, 37-41, 1887. *Recueil Inst. bot. ERRERA*, **2**, 229-233, 1906.

6. E. DE WILDEMANN : Présence et localisation d'un alcaloïde dans quelques Orchidées. *Bull. Soc. belge Microsc.*, **13**, 101-112, 1892. *Recueil Inst. bot. ERRERA*, **2**, 337-346, 1906.

7. G. CLAUTRIAU : Localisation et signification des alcaloïdes dans quelques graines. *Ann. Soc. belge Microsc.*, **13**, 35-54, 1894. *Recueil Inst. bot. ERRERA*, **2**,

parition de la nouvelle méthode, la localisation des alcaloïdes dans le *Papaver somniferum* L., reprend l'étude de la répartition des alcaloïdes dans les graines de *Delphinium*, *Conium*, *Strychnos*, *Datura*, *Hyoscyamus*, en vue d'une étude générale du rôle des alcaloïdes dans les végétaux.

En 1895, MOLLE<sup>(1)</sup> fait un travail d'ensemble sur la répartition des alcaloïdes dans les Solanacées, et DE DROOG<sup>(2)</sup> (1896) étend l'observation de DE WILDEMANN à toutes les Orchidacées.

La méthode d'ERRERA ne tarda pas à être employée dans notre pays et, en 1895, nous pouvons citer le travail de P. GUÉRIN<sup>(3)</sup> sur l'anagyryne et la cytisine, l'un des premiers où fut envisagée la variation de l'alcaloïde dans les divers organes et aux diverses époques de la végétation, et les recherches de LUTZ<sup>(4)</sup> sur les *Senecio*.

A Montpellier, L. SAUVAN<sup>(5)</sup> (1896) entreprend la localisation de quelques glucosides et d'un certain nombre d'alcaloïdes, parmi lesquels la strychnine et la brucine, la curarine, la gelsémine, la taxine et la berbérine.

A l'étranger, quelques travaux analogues paraissent vers la même époque.

P. ANEMA<sup>(6)</sup> (1892) étudie la répartition des alcaloïdes dans les plantes narcotiques.

GEROCK et SKIPARI<sup>(7)</sup> (1892), ELFSTRAND<sup>(8)</sup> (1895), reprennent l'étude des alcaloïdes dans les Loganiacées, et HERMANN BARTH<sup>(9)</sup> (1898),

265-280, 1906. — Recherches microchimiques sur la localisation des alcaloïdes dans le *Papaver somniferum* L., *Ann. Soc. belge Microsc.*, **12**, 67-85, 1889. *Recueil Inst. bot.*, ERRERA, **2**, 237-251, 1906. — Nature et signification des alcaloïdes végétaux. *Ann. soc. roy. des sc. méd. et nat. de Bruxelles*, **9**, fasc. 2, 113 p. 1900.

1. PH. MOLLE : Recherches de microchimie comparée sur la localisation des alcaloïdes dans les Solanacées. *Mémoires couronnés et autres Mémoires publiés par l'Acad. roy. de Belgique*, **43**, 1895. *Recueil Inst. bot.*, ERRERA, **2**, 281-336, 1906.

2. EM. DE DROOG : Contribution à l'étude de la localisation microchimique des alcaloïdes dans la famille des Orchidacées. *Mémoires couronnés et autres Mémoires publiés par l'Acad. roy. de Belgique*, **45**, 1896. *Recueil Int. bot.*, ERRERA, **2**, 347-373, 1906.

3. P. GUÉRIN : Recherches sur la localisation de l'anagyryne et de la cytisine, 62 p. in-8°, 6 pl. col. *Th. Pharm.* Paris, 1895.

4. L. LUTZ : Localisation des principes actifs dans les Sénéçons, *Bull. Soc. Bot. de France*, **42**, 486-488, 618-619, 1895.

5. L. SAUVAN : Recherches sur la localisation de la Brucine et de la Strychnine dans les semences de *St. Nux-vomica*, *St. Ignatii*, *S. Gaultheriana*. *Journ. Pharm. Chim.* (6 s.), **4**, 496-498, 1895. — Localisation des principes actifs dans les végétaux. *Journ. Bot.*, **40**, 126-140, 156-162, 1896.

6. P. ANEMA : De zetel der Alkaloïden bij enkele narkotische Planten. Utrecht, 1892, analysé in *Jahr. d. Pharm.*, **27** 197-198, 1892.

7. GEROCK et SKIPARI : Ueber den Sitz der Alkaloïde in Strychnossamen. *Arch. d. Pharm.* **230**, 555-560, 1892.

8. M. ELFSTRAND : Studier öfver Alkaloïdernas lokalisering företrädesvis inom familjen Loganiaceæ, Upsala, 1895.

9. HERMANN BARTH : Studien über den mikrochem. Nachweis von Alkaloïden in Arzneidrogen. *Arch. d. Pharm.*, **236**, 354-367, 1898; *Dissert.* Zurich, 1898.

étudie avec soin leur localisation dans les semences d'*Areca Catechu* L., de *Peganum Harmala* L., de *Physostigma venenosum* Balf., et vérifie les résultats déjà acquis pour les graines de Solanacées, de Ciguë, de *Strychnos*, de *Colchicum*, de *Sabadilla*.

ZOPF <sup>(1)</sup> montre la présence de la corydaline dans les laticifères du *Corydalis*.

Plus récemment (1898), nous devons signaler le travail de LOTSY <sup>(2)</sup> sur la localisation et la répartition des alcaloïdes dans les *Cinchona*, fait à Java, au milieu des plantations de Quinquinas.

Presque à la même époque (1900), CHARPENTIER <sup>(3)</sup> aborde le même sujet sur les plantes des serres de l'École de Pharmacie, et la divergence qui existait entre les deux auteurs, au sujet de la présence ou de l'absence de tanin dans les cellules à alcaloïde, est tranchée dans le sens de l'affirmative par GORIS et REIMERS <sup>(4)</sup>, qui confirment ainsi les conclusions de LOTSY.

En 1901, G. ALBO <sup>(5)</sup> étend les recherches d'ERRERA, MAISTRIAU et CLAUTRIAU, sur la colchicine, à d'autres espèces de Colchiques, et au genre *Merendera*.

En 1901, signalons encore la thèse de VANDERLINDEN <sup>(6)</sup> sur la répartition des alcaloïdes et des glucosides dans les Renonculacées; en 1902, les recherches de MOLLE <sup>(7)</sup> sur la présence d'un alcaloïde dans le *Clivia miniata* Benth., de RUSSELL <sup>(8)</sup> sur la taxine, d'AUDEMARD <sup>(9)</sup> sur la répartition des alcaloïdes dans les genres *Sarothamnus*, *Genista*, *Spartium*.

1. ZOPF : Ueber die Gersbstoff und Anthocyan-Behälter der Fumariaceen und einiger anderen Pflanzen, *Bibliotheca Botanica*, 2, 40 p., 3 pl. col., 1886.

2. LOTSY : De localisatie van het alcaloid in *Cinchona Calisaya Ledgeriana* en in *C. succirubra*. *Mededeelingen van de Laboratoria der Gouvernement's Kinaonderneming*. Batavia, 128 p. avec 36 fig. et 20 pl. col., 1898.

3. CHARPENTIER : Etude anatomique et microchimique des Quinquinas de culture, 50 p. in-8°. *Th. Doct. Un. Pharm.*, Paris, 1900.

4. A. GORIS et M. N. REIMERS : Recherches microchimiques sur les Quinquinas. *Bull. Sc. Pharm.*, 3, 284-299, 1901.

5. GIACOMO ALBO : Sur la signification physiologique de la colchicine dans les différentes espèces de *Colchicum* et de *Merendera*. *Arch. d. Sc. phys. et nat. de Genève*, 12, 227-236, 1901.

6. VANDERLINDEN : Recherches microchimiques sur la présence des alcaloïdes et des glucosides dans la famille des Renonculacées. *Ann. Soc. roy. des Sc. méd. et nat. de Bruxelles*, 10, fasc. I, 50 p. in-8°, 2 pl. color., 1901; *Recueil Inst. bot. ERRERA*, 5, 135-178, 1902.

7. PH. MOLLE : Un alcaloïde dans le *Clivia miniata*. Benth. *Ann. Soc. roy. des Sc. méd. et nat. de Bruxelles*, 11, fasc. 3, 1902; *Recueil Inst. bot. ERRERA*, 6, 57-71, 1906.

8. RUSSELL : Recherche sur la localisation de la Taxine chez l'If. *Assoc. franç. avanc. des Sc. Congrès Montauban*, 693-696, 1901.

9. AUDEMARD : Recherches sur la localisation des alcaloïdes dans les Genêts. *Th. Doct. Un. Pharm.*, Montpellier, 1902.

A. JACQUEMIN <sup>(1)</sup> (1906) recherche les alcaloïdes dans les Légumineuses par la méthode microchimique; et, la même année, G. ASTOLFONI <sup>(2)</sup> aborde la localisation de l'hydrastine dans l'*Hydrastis*.

A. BLANC <sup>(3)</sup>, en 1905, démontre la présence d'un alcaloïde, jusqu'alors insoupçonné, dans le *Sambucus Ebulus* L. La même année, M<sup>lle</sup> M. PIZETTI <sup>(4)</sup> étudie la répartition de la nupharine dans le *Nuphar luteum* Sibth. et Sm. et le *Nymphæa alba* L.

Enfin, pour terminer, en 1910, COMOTTI <sup>(5)</sup> étend la première observation de MOLLE, sur le *Clivia*, à toutes les Amaryllidacées.

## II. — MÉTHODES GÉNÉRALES DE LOCALISATION DES ALCALOÏDES

Les réactions employées pour la recherche microchimique des alcaloïdes s'inspirent de celles qu'utilise couramment l'analyse chimique pour caractériser ces composés.

On aura donc recours : soit aux réactifs généraux qui permettent de s'assurer de la nature du corps à rechercher, soit à des réactifs particuliers qui permettent d'identifier un alcaloïde. Avec les premiers, nous pourrions prouver l'existence des corps de cette nature dans les végétaux sans être obligés de les en extraire; les seconds, d'une application plus étroite, nous serviront plus spécialement à l'étude microchimique des alcaloïdes déjà connus.

### 1. — Réactifs des alcaloïdes.

Les réactions qui permettent de caractériser les alcaloïdes sont des réactions de précipitation ou des réactions de coloration.

Pour les réactions de précipitation *in vitro*, il faut faire agir le réactif sur l'alcaloïde ou l'un de ses sels dissous dans l'eau; pour les réactions

1. A. JACQUEMIN : Sur la localisation des alcaloïdes dans les Légumineuses. *Ann. Soc. roy. des Sc. méd. et nat. de Bruxelles*, **14**, 41-84, 2 pl. 1905. *Recueil Inst. bot. ERRERA*, **6**, 257-297, 1906.

2. GIUSEPPE ASTOLFONI : Ricerche farmacognostiche e microchimiche nel rizoma d'*Hydrastis canadensis*. *Boll. chim. farm.*, **43**, 117-122, 1904.

3. A. BLANC : Essai sur la localisation des principes actifs dans le *Sambucus Ebulus*. *Bull. Pharm. Sud-Est*, **10**, 25-40, 93-100, 1905. — L'Hièble (*Sambucus Ebulus* L.). Etude pharmacologique. *Th. Doct. Un. Pharm.*, Montpellier, 55-56. 1905.

4. MARGHERITA PIZETTI : Sulla localizzazione dell' alcaloïde nel *Nuphar luteum* Schmidt et nelle *Nymphæa alba* L. *Malpighia*, **18**, 106-109, 1904.

5. R. COMOTTI : Recherches sur la localisation des alcaloïdes dans les Amaryllidacées. *Th. Doct. Un. Pharm.*, Paris, 1910.

de coloration, le plus souvent, au contraire, on met en contact le réactif avec un cristal de l'alcaloïde.

On opère de la même façon avec les coupes histologiques. On fait agir le réactif sur la coupe, soit en plongeant cette dernière dans le réactif lui-même, soit en faisant arriver celui-ci sous la lamelle et en suivant la réaction sous le microscope. Cette dernière manière de procéder est surtout recommandable pour les réactions de coloration.

Nous pourrions aussi, pour les réactifs précipitants, opérer directement sur des fragments de tissu, en plongeant entièrement ces derniers dans le réactif et en les y laissant un temps suffisant. On pourra ensuite faire des coupes sans avoir à se préoccuper de la diffusion du suc cellulaire, inconvénient qui se produit plus ou moins dans le traitement direct des coupes par le réactif.

Enfin, dans certains cas, il y a avantage à faire agir sur la coupe le réactif, colorant ou précipitant, à l'état gazeux. La réaction a lieu en milieu presque anhydre, et les produits d'addition et de substitution formés sont très souvent cristallisés, faciles à examiner au microscope ordinaire ou polarisant. L'iode, le brome, le chlore, l'ammoniaque, l'acide chlorhydrique, l'acide azotique se prêtent facilement à ce genre de réactions.

Nous examinerons donc successivement :

- 1° Les réactifs précipitants;
- 2° Les réactifs gazeux;
- 3° Les réactifs colorants.

a) **Réactifs précipitants.** — Le réactif précipitant le plus souvent employé et le plus sensible est :

1° *L'iodure de potassium iodé.* — Désigné plus souvent sous le nom de *Réactif de Bouchardat* ou de *Wagner-Kippenberger*, il est préparé en dissolvant 1 gramme d'iode et 3 grammes d'iodure de potassium dans 100 grammes d'eau. Il donne avec les alcaloïdes un précipité brun kermès, et avec certains d'entre eux un précipité noir verdâtre. Ces précipités sont solubles dans l'alcool; aussi devra-t-on éviter de faire intervenir ce liquide dans la réaction. Le précipité ne se forme qu'en milieu acide (colchicine); cela n'a pas grand inconvénient puisque le suc cellulaire est lui-même le plus souvent acide; toutefois on peut acidifier légèrement le réactif par quelques gouttes d'acide chlorhydrique ou acétique.

Dans certains cas, ERREERA recommande d'employer une solution d'iodure de potassium iodé au 1/450 (KI, 0,3; I, 0,10; H<sup>2</sup>O, 45).

Quelques alcaloïdes donnent, ainsi que l'a fait remarquer TANRET, des précipités qui sont solubles dans un excès d'iodure de potassium; pour éviter cette redissolution, on modifie alors la formule du réactif: on fait une solution aqueuse d'iodure de potassium, et on la sature par de

l'iode. Au moment de l'emploi, on dilue le réactif de façon convenable.

L'iodure de potassium iodé présente quelques inconvénients : les substances riches en amidon se colorent fortement en bleu et l'on distingue mal le précipité d'alcaloïde. Le plasma, l'aleurone, les matières albuminoïdes se colorent en rouge brun et peuvent ainsi devenir des causes d'erreur. Nous verrons par la suite comment on peut distinguer le précipité d'alcaloïde d'avec celui des matières protéiques.

Les peptones donnent également un précipité avec le réactif de BOUCHARDAT, mais on peut empêcher cette dernière réaction en ajoutant un peu de carbonate d'ammoniaque à la solution (CLAUTRIAU).

2° *L'iodure double de bismuth et de potassium* est également un réactif très sensible. La formule a été indiquée par DRAGENDORFF, puis modifiée par KRAUT, JOHNS, MANGINI et THRESH.

D'après MANGINI, on le prépare avec 30 grammes d'iodure de potassium, 16 grammes d'iodure de bismuth, 3 grammes d'acide chlorhydrique, que l'on dissout dans 1.000 parties d'eau.

Si l'on ne possède pas d'iodure de bismuth, on peut le préparer en suivant les indications de JOHNS. On dissout 8 grammes de sous-nitrate de bismuth dans 20 grammes d'acide azotique ( $D = 1,18$ ) et on y verse une solution concentrée de 25 grammes d'iodure de potassium; on laisse cristalliser le nitrate de potasse, on décante la partie liquide que l'on ramène à 100 centimètres cubes. Ce réactif se conserve moins bien que celui de MANGINI, qui a le très grand avantage de rester limpide par dilution aqueuse.

Les précipités obtenus avec le réactif de DRAGENDORFF sont de couleur brun rougeâtre, faciles à distinguer.

Il faut également éviter d'employer l'alcool dans la précipitation avec ce réactif, car certains précipités sont solubles dans l'alcool.

3° *L'iodure de mercure et de potassium* est encore appelé *réactif de Mayer, de Valser*. On le prépare d'après la formule de MAYER, en dissolvant 13 gr. 55 de bichlorure de mercure et 49 grammes d'iodure de potassium dans un litre d'eau distillée.

Les précipités fournis par ce réactif sont, comme pour l'iodure de potassium iodé, solubles dans un excès d'iodure de potassium; aussi la formule a-t-elle été modifiée par VALSER, qui sature d'iodure de mercure une solution d'iodure de potassium à 10 p. 100. Le réactif ainsi obtenu est plus sensible que le précédent. D'autres modifications ont été proposées par PLANTA, DELF et WINCKLER, BOEHM, TANRET.

Le réactif de ce dernier auteur est surtout employé pour la recherche des albuminoïdes. On le prépare en dissolvant 3 gr. 32 d'iodure de potassium, et 1 gr. 35 de bichlorure de mercure dans 20 centimètres cubes d'acide acétique que l'on étend ensuite à 60 centimètres cubes. C'est un très bon réactif des alcaloïdes qui donne des précipités blancs ou jau-

nâtres, floconneux, devenant ensuite cristallins dans beaucoup de cas. La précipitation doit se faire en milieu acide. Les précipités sont solubles dans l'alcool. Certains alcaloïdes (caféine, solanine, théobromine) ne précipitent pas par ce réactif.

Pour les recherches microchimiques, ce réactif n'est guère recommandable, car il est difficile de distinguer le précipité blanc, granuleux, des substances granuleuses qui existent généralement à l'intérieur des cellules.

On peut cependant tourner la difficulté en laissant les coupes dans de l'eau distillée pour enlever l'excès de réactif par lavage, puis les plongeant dans de l'eau fraîchement saturée par l'hydrogène sulfuré ou dans une solution d'acétate de plomb diluée. Il se forme : soit un précipité de sulfure de mercure, soit un précipité d'iodure de plomb, qui sont colorés et permettent de reconnaître l'élément qui renfermait le précipité primitif.

4° *L'iodure de cadmium et de potassium constitue le réactif de Marmé, de Lepage, de Verven.*

On le prépare en dissolvant 20 grammes d'iodure de potassium et 10 grammes d'iodure de cadmium dans 60 centimètres cubes d'eau. On peut acidifier légèrement le réactif par l'acide sulfurique. Il donne des précipités amorphes blanchâtres devenant souvent cristallins. Il ne présente pas de sérieux avantages sur le réactif précédent.

5° *L'iodure double de cæsium et de mercure et l'iodure double de baryum et de mercure ont été préconisés dans ces dernières années par HERDER<sup>1</sup> pour les recherches microchimiques. Ils offrent l'avantage sur les précédents réactifs d'être plus sensibles, car l'auteur a constaté que la sensibilité du réactif augmente avec la grandeur moléculaire du sel associé au mercure; c'est ainsi qu'avec l'aconitine la limite de sensibilité est de 1 : 80.000 pour l'iodure de mercure et de cæsium, 1 : 82.000 pour l'iodure double de mercure et de baryum, et elle n'est que de 1 : 40.000 pour l'iodure double de mercure et de potassium. Les précipités obtenus sont amorphes, mais ils prennent peu à peu un aspect cristallin.*

HERDER a de plus constaté que, non seulement ces précipités étaient insolubles dans la solution de chloral employée en histologie, mais qu'à son contact ils devenaient aussitôt cristallins; il a donc recommandé de faire une solution de ces iodures doubles dans une liqueur aqueuse contenant 30 p. 100 d'hydrate de chloral. Cette solution a l'avantage d'éclaircir les préparations; les tissus sont rapidement

1. HERDER : Ueber einige neue allgemeine Alkaloidreagentien und deren mikrochemische Verwendung. *Arch. der Pharm.*, **244**, 120-132, 1906. *Dissert.*, Strasbourg, 1905.

pénétrés, et l'aspect cristallin du précipité empêche toute confusion avec les précipités dus aux albumines et aux peptones. HERDER recommande surtout l'iodure double de mercure et de cæsium, car le sel de baryum peut donner des précipités avec un certain nombre d'acides ou de sels existant dans les végétaux et qui ne réagissent pas sur le sel de cæsium.

On prépare ces réactifs en dissolvant 13 gr. 55 de bichlorure de mercure et 78 grammes d'iodure de cæsium, ou 58 gr. 7 d'iodure de baryum dans un litre d'eau ou de solution de chloral à 30 p. 100.

6° *L'acide phosphotungstique* ou le *phosphotungstate de soude en solution acide*, ou *réactif de SCHEIBLER*, se prépare en dissolvant 20 grammes de tungstate de soude et 15 grammes de phosphate de soude dans l'eau, acidifiant fortement par l'acide azotique et complétant à 100 centimètres cubes.

Ce réactif donne des précipités blanc jaunâtre avec les alcaloïdes; il réagit de la même façon avec les matières protéiques.

7° *L'acide phosphomolybdique* ou, mieux, le *phosphomolybdate de soude en solution acide*, ou *réactif de DE VRIJ*, de SONNENSCHEN, donne des précipités blanc jaunâtre avec les alcaloïdes. Il précipite également les matières albuminoïdes.

On le prépare en dissolvant 20 grammes de phosphomolybdate de soude dans de l'eau fortement additionnée d'acide azotique.

8° *L'acide phosphoantimonique*, ou *réactif de SCHULZE*, s'obtient en ajoutant goutte à goutte une partie de perchlorure d'antimoine dans trois parties d'une solution concentrée de phosphate de soude. Il donne des précipités blancs, amorphes, avec les alcaloïdes. Il est donc peu utilisable en microchimie végétale. Il est d'ailleurs moins sensible que le précédent réactif.

9° Le *chlorure de platine*, en solution aqueuse à 10 p. 100, est l'un des meilleurs réactifs des alcaloïdes en solution très faiblement chlorhydrique; il les précipite sous forme de sels doubles cristallisés, difficilement solubles.

10° Le *tanin*, en solution aqueuse à 10 p. 100, donne un précipité brunâtre amorphe avec la plupart des alcaloïdes. Cette solution a l'inconvénient de pénétrer très lentement dans les cellules; il faut même parfois chauffer légèrement pour tuer le protoplasme.

11° *L'acide picrique*, en solution à 1 p. 100, donne avec les alcaloïdes un précipité tantôt amorphe (quinine, vératrine, émétine), tantôt cristallin (strychnine, brucine).

12° Le *chlorure d'or*, en solution au 1/20, donne, comme le chlorure de platine, de très bons résultats.

13° Le *chlorure de mercure*, en solution aqueuse au 1/20, donne des précipités blancs, souvent cristallins, avec un grand nombre d'alcaloïdes. Il n'est guère intéressant pour les recherches microchimiques.



14° Le *cyanure double de platine et de potassium*, en solution aqueuse au 1/10, ou *réactif de DELFFS*, peut servir dans certains cas à la localisation des alcaloïdes.

15° Les *ferro et ferricyanure de potassium*, en solution aqueuse à 5 p. 100, ont été employés par WYNDHAM, DUNSTAN et SHORT pour la brucine et la strychnine.

Leur application n'est pas générale et ne peut guère servir en microchimie que dans quelques cas particuliers.

16° Le *sulfocyanate de potassium*, en solution aqueuse à 5 p. 100, est le réactif préconisé par GMELIN. Il donne des précipités blancs, amorphes, avec la plupart des alcaloïdes; aussi n'est-il pas très recommandable. On pourrait s'en servir en faisant une double réaction avec une solution très diluée de perchlorure de fer, après avoir bien lavé la préparation; on obtiendrait dans toutes les cellules où il y a eu un précipité une coloration rouge caractéristique.

17° Le *bichromate de potasse*, en solution à 5 p. 100 (ANDRÉ), fournit avec un certain nombre d'alcaloïdes des précipités cristallins, notamment avec la brucine, la cocaïne, la codéine. Mais le bichromate a l'inconvénient de précipiter les substances tanniques si répandues dans les végétaux.

18° Le *nitroprussiate de soude*, en solution à 5 p. 100, est recommandé par HORSLEY pour la recherche des alcaloïdes; il donne avec ceux-ci des précipités cristallins.

19° Le *sulfoantimoniate de soude*, *réactif de Palm*, donne avec les alcaloïdes des précipités jaune ou rouge brun.

20° Le *persulfate d'ammoniaque*, *réactif de Orlov-Horst*, donne avec les alcaloïdes des précipités de coloration variée: incolore avec la cocaïne; jaune, puis vert avec la chélidonine; orange avec la morphine, la codéine.

21° L'*eau de brome*. On emploie la solution aqueuse saturée qui donne des précipités avec de nombreux alcaloïdes.

22° Le *permanganate de potassium*, *réactif de Beckurts* (solution décimale) se comporte de façons différentes suivant les alcaloïdes: *aconitine*, *brucine*, *quinine*, *cinchonidine*, *codéine*, *colchicine*, *thébaïne* réduisent le permanganate de potassium; *atropine*, *berbérine*, *pilocarpine*, *strychnine* donnent une coloration rose affaiblie et une réduction lente; avec la *morphine*, on obtient un précipité d'oxydimorphine; avec la *cocaïne*, la *narcotine*, la *papavérine*, des précipités cristallins.

23° Le *molybdate d'ammoniaque*, *réactif de Buckingham*, en solution fraîchement préparée et filtrée (1 gramme de molybdate d'ammonium dans 16 grammes d'eau à chaud), donne des précipités colorés variant avec les divers alcaloïdes.

24° Le *réactif de Dittman* est une solution d'*iodure de potassium* et

de *nitrite de soude* dans l'acide chlorhydrique. Il donne avec les alcaloïdes des précipités jaunes ou bruns.

b) **Réactifs gazeux.** — Nous avons dit au début de ce chapitre que l'on pouvait employer très avantageusement quelques réactifs à l'état gazeux. Cette technique a particulièrement été étudiée par H. BARTH<sup>1</sup>.

1° *Iode.* — On introduit quelques grammes d'iode dans un dessiccateur et on couvre l'iode de quelques centimètres de sable pour empêcher une volatilisation trop rapide. On dépose sur le sable les lames portant les coupes à étudier, on les retire après un temps variant de trois à vingt-quatre heures et on les examine dans l'huile de vaseline.

Les vapeurs d'iode ne colorent pas l'amidon en bleu, teintent à peine les membranes de la cellule, de sorte que cette méthode est surtout intéressante pour des tissus amylicés. Les alcaloïdes donnent avec l'iode des précipités cristallins, le plus souvent solubles dans l'eau; c'est pourquoi on doit faire l'examen dans l'huile de vaseline.

2° *Brome.* — L'eau de brome ne convient pas, car l'eau, en s'évaporant en même temps que le brome, dissout les cristaux formés. BARTH recommande alors le bromure de chaux que l'on prépare par action du brome sur la chaux.

3° *L'ammoniaque,* employée sous forme de chlorhydrate ou de carbonate, ne donne pas de résultats satisfaisants. Il n'y a donc guère, en définitive, que les vapeurs d'iode qui puissent être avantageusement utilisées.

c) **Réactifs colorants.** — Un très grand nombre d'alcaloïdes fournissent des réactions colorées caractéristiques sous l'influence des acides concentrés, des oxydants, des réducteurs.

Ces réactions colorées sont particulières à chaque alcaloïde et variables avec les différents réactifs employés. Elles seront surtout précieuses pour la recherche d'alcaloïdes déjà connus, et pour le contrôle des résultats obtenus avec les réactifs précipitants.

Comme ces réactifs sont surtout à base d'acides sulfurique, azotique, chlorhydrique, concentrés, ils présentent le grave inconvénient de détruire les membranes cellulaires. D'autre part, les matières albuminoïdes donnent des réactions colorées du même genre; aussi devra-t-on être très prudent dans les conclusions et s'assurer, sur des coupes préalablement privées d'alcaloïdes, que la réaction est bien due à ces composés basiques et non aux matières protéiques.

Les réactifs les plus employés sont :

1° *L'acide sulfovanadique* ou *réactif de Mandelin, de Johannson, de Kundrat.* Vanadate d'ammoniaque, 1 gramme; acide sulfurique, 100 centimètres cubes.

1. HERMANN BARTH : *Loc. cit.*

Ce réactif donne des colorations caractéristiques avec la plupart des alcaloïdes : *atropine* : rouge; *brucine* : rouge sang; *pilocarpine*, orangé clair; *quinine*, orangé pâle; *colchicine*, vert; *morphine*, brun; *strychnine*, bleu violet; *vératrine*, rouge brun, etc.

2° *L'acide sulfurique nitreux*, ou *réactif d'Erdmann*. Se prépare en ajoutant dix gouttes d'acide azotique concentré ( $D=1,25$ ) à 100 centimètres cubes d'eau, puis dix gouttes de cette solution diluée à 20 centimètres cubes d'acide sulfurique concentré.

3° *L'acide sulfomolybdique*, ou *réactif de Fröhde* a pour formule : molybdate de soude, 1 gramme; acide sulfurique concentré, 100 centimètres cubes. Il produit avec les alcaloïdes des réactions colorées variables. Il faudra se rappeler que les glucosides et les albuminoïdes donnent également des réactions colorées avec le réactif de FRÖHDE.

4° *L'acide sulfocérique* : sulfate de cérium, 1 gramme; acide sulfurique concentré, 100 centimètres cubes.

5° *L'acide sulfosélénique*, ou *réactif de Mecke*, peut se préparer avec le séléniate de soude, ou l'acide sélénieux. RENDELN donne la formule suivante : séléniate de soude, 0,3; eau, 8 centimètres cubes; acide sulfurique concentré, 6 centimètres cubes. MECKE fait dissoudre 0,50 d'acide sélénieux dans 100 centimètres cubes d'acide sulfurique concentré. Ce réactif donne, soit à froid, soit à chaud, des colorations variées, parfois caractéristiques, avec les alcaloïdes. Il agit également sur beaucoup de glucosides.

6° *Le réactif de Raspail, de Robin*. On humecte la substance avec une solution concentrée de sucre de canne et l'on fait agir l'acide sulfurique concentré. Ce réactif donne des colorations caractéristiques avec la plupart des alcaloïdes : *atropine*, coloration violet passant au brun; *aconitine*, rouge; *strychnine*, rougeâtre; *vératrine*, vert foncé; *codéine*, rouge cerise.

7° *Les réactifs de Bronciner*. 1° Tellurate d'ammoniaque, 1 gramme; acide sulfurique concentré, 20 centimètres cubes; 2° uranate d'ammoniaque, 1 gramme; acide sulfurique concentré, 20 centimètres cubes; 3° ruthéniate de potassium, 1 gramme; acide sulfurique concentré, 20 centimètres cubes; 4° niobate d'ammonium, ou fluoniobate d'ammonium, 1 gramme; acide sulfurique concentré, 40 centimètres cubes.

Ces réactifs donnent avec quelques alcaloïdes des réactions colorées.

8° *Les réactifs de Brunner-Streyzowski* se préparent en dissolvant dans l'acide sulfurique concentré, du chloral, du bromal, du furfurol, ou de l'acide orthonitrophénylpropionique; ces solutions réagissent à froid ou à chaud sur les alcaloïdes en donnant des réactions colorées.

9° *Le réactif d'Elias, de Linke, de Woltering* est analogue au précédent : c'est de l'acide sulfurique concentré additionné d'un peu d'aldéhyde formique. La *codéine* donne une coloration bleue, la *morphine*, une

coloration rouge cerise. La *caféine*, la *cocaïne*, la *pilocarpine*, l'*ésérine* ne donnent aucune coloration.

Signalons encore :

10° *Le réactif de Grandeau* : acide sulfurique concentré additionné d'eau de brome.

11° *Le réactif de Lindo* : acide sulfurique étendu et perchlorure de fer.

12° *Le réactif de Melzer* : quelques gouttes d'acide sulfurique concentré et une ou deux gouttes d'une solution de benzaldéhyde à 20 p. 100 dans l'alcool absolu. Il donne des réactions colorées avec un grand nombre d'alcaloïdes.

13° *Le réactif de Selmi* : solution saturée d'acide iodique dans l'acide sulfurique concentré. Cette solution s'emploie diluée au 1/6.

14° *Le réactif de Wenzel* : solution de 1 gramme de permanganate de potassium dans 2.000 centimètres cubes d'acide sulfurique concentré. Ce réactif donne des réactions colorées avec quelques alcaloïdes. La *vératrine*, notamment, donne une belle coloration rouge clair, et, si la concentration est suffisante, un précipité orangé.

Tous ces réactifs sont à base d'acide sulfurique concentré. Aussi l'action destructive de cet acide sur les tissus végétaux réduit-elle considérablement leur emploi en microchimie. Cependant, si, dans les formules, en substituant l'acide sulfurique de constitution  $\text{SO}^4\text{H}^2 + \text{H}^2\text{O}$  (1), à l'acide sulfurique concentré  $\text{SO}^4\text{H}^2$ , on obtient encore *in vitro*, les réactions colorées avec les alcaloïdes, on pourra avec avantage se servir de ces nouvelles formules. L'action corrodante d'un acide aussi faiblement dilué n'est plus suffisante pour détruire instantanément les membranes cellulaires. Les coupes peuvent même se conserver quelque temps dans cet acide et permettre une observation détaillée; en tout cas, on peut suivre facilement, sous le microscope, l'action du réactif.

Si les réactifs préparés avec cet acide sulfurique ( $\text{SO}^4\text{H}^2 + \text{H}^2\text{O}$ ) ne donnent plus la réaction *in vitro*, il ne faut évidemment pas songer à les employer pour les recherches microchimiques; comme les mêmes réactifs à base d'acide sulfurique concentré sont également inutilisables, il faut donc avoir recours à d'autres réactions, et c'est pourquoi nous avons donné une liste assez grande de ces réactifs.

On emploie également d'autres réactifs acides pour les réactions colorées.

15° *L'acide phosphorique concentré* : réactif d'*Arnold*, de *Nowak-Kratschmer*. C'est une dissolution d'acide métaphosphorique ou d'anhydride phosphorique dans l'acide phosphorique officinal à 25 p. 100 ou, plus simplement, de l'acide phosphorique sirupeux. Quelques alcaloï-

1. Acide sulfurique officinal (D. 183-100). . . . .	98
Eau . . . . .	18

des donnent à froid ou par un léger échauffement au B. M. des réactions colorées caractéristiques; c'est ainsi que l'*aconitine* se colore en violet, la *nicotine* en jaune, la *conicine* en vert.

16° *La réaction de Vitali, de Trottarelli.*

On évapore à sec une trace d'alcaloïde avec de l'acide nitrique fumant, puis on ajoute une solution de potasse alcoolique. Cette réaction facile à réaliser *in vitro* est inapplicable dans les recherches microchimiques.

17° *La réaction de Schwartzbach*, qui consiste à traiter les coupes par l'acide azotique à chaud, puis par l'ammoniaque, n'est pas non plus très pratique.

18° *La réaction de Kobler, de Langley.* On ajoute à l'alcaloïde quatre à cinq fois son poids de nitrate de potasse, puis quelques gouttes d'acide sulfurique et enfin de la soude caustique. La réaction est trop brutale pour pouvoir être utilisée en microchimie.

19° Il en est de même de la *réaction d'Arnold-Vitali*, qui se rapproche beaucoup de la précédente.

## 2. — Choix des réactions. — Méthode d'Errera.

Le nombre des réactifs permettant de localiser les alcaloïdes est grand; tous ne sont pas également recommandables.

Les réactifs les plus employés sont : les *iodures doubles* et, en particulier, le *réactif de BOUCHARDAT*, les *acides phosphomolybdique et phosphotungstique*, le *chlorure de platine* ou le *chlorure d'or*; parmi les réactions colorées, celles que donnent les *réactifs de MANDELIN*, de *FRÖHDE*, de *МЕЦКЕ*, l'*acide sulfocérique*, fournissent les meilleurs résultats, à condition que l'on puisse les employer avec l'acide sulfurique dilué ( $\text{SO}^4\text{H}^2 + \text{H}^2\text{O}$ ).

Beaucoup de réactifs précipitants ne sont pas utilisables parce que les précipités obtenus sont incolores. On peut alors, et seulement dans certains cas, combiner les deux genres de réaction : on provoque la précipitation de l'alcaloïde dans les cellules, puis l'on fait réagir un réactif colorant convenablement choisi.

Il est d'ailleurs toujours bon de vérifier les résultats obtenus par les réactifs précipitants au moyen d'une réaction colorée. Cette méthode, lorsqu'elle peut être utilisée, est très intéressante, à cause même de la vérification qu'elle comporte.

*Méthode d'Errera.* — Toutes ces réactions présentent un grand inconvénient : les matières protéiques et les alcaloïdes se comportent d'une façon analogue, aussi bien avec les réactifs précipitants qu'avec les réactifs de coloration.

Pour remédier à cette cause d'erreur, ERRERA a indiqué un procédé

de différenciation qui, dans tous les ouvrages de botanique, est désigné sous le nom de *Méthode d'ERRERA*. Voici en quoi elle consiste :

On fait des coupes transversales suffisamment épaisses pour contenir au moins une assise de cellules entières, et des coupes longitudinales, car, dans les coupes transversales, les éléments du liber, constitués par des cellules très allongées, laissent facilement échapper leur contenu. Ces préparations sont déposées dans le réactif, où on les laisse un temps variable avec chaque plante et que la pratique détermine. Dans certains cas, la coupe, en arrivant dans le réactif, y produit un abondant précipité dû à l'alcaloïde extravasé des cellules sectionnées; on passe alors les préparations dans une nouvelle quantité de réactif, et même une troisième fois si cela est nécessaire et, finalement, on les abandonne le temps convenable dans une nouvelle quantité de réactif qui ne doit plus se troubler au contact de la coupe.

On peut aussi déposer la coupe à même la lame, ou dans une goutte d'eau, la recouvrir d'une lamelle et faire arriver le réactif latéralement; on suit ainsi la précipitation ou la coloration sous le microscope.

Pour s'assurer que le précipité est bien dû à un alcaloïde, on plonge des coupes semblables aux précédentes dans des liquides susceptibles d'enlever les principes alcaloïdiques. On peut employer l'alcool absolu, l'alcool tartrique (solution d'acide tartrique au 1/20 dans l'alcool absolu), l'alcool chlorhydrique :

Alcool absolu . . . . .	95 cm <sup>3</sup>
Eau distillée . . . . .	5 —
Acide chlorhydrique (D=1,12) . . . . .	2 —

ERRERA préfère l'*alcool tartrique* qui a l'avantage de tuer immédiatement le protoplasme et favorise, grâce à son acidité, la dissolution des alcaloïdes et leur extraction. De plus, en neutralisant les sels alcalins qui pourraient exister dans la plante et solubiliseraient les matières protéiques, il favorise l'action des réactifs sur les albuminoïdes, évitant ainsi des erreurs dues à leur disparition.

Après un séjour, qui varie de deux heures à vingt-quatre, dans cet alcool tartrique, l'alcaloïde est dissous, tandis que les matières protéiques sont précipitées dans la cellule même. On fait alors réagir, après lavage, les réactifs des alcaloïdes que l'on avait déjà employés directement sur d'autres coupes.

On compare les deux préparations: si les réactions ont disparu, c'est une preuve qu'elles étaient dues aux alcaloïdes; si elles persistent, il faut les attribuer à la présence des matières albuminoïdes.

## 3. — Réactifs des matières albuminoïdes.

Il y a parfois intérêt à caractériser les matières albuminoïdes par les réactions qui leur sont propres; aussi croyons-nous utile de donner les méthodes qui permettent de caractériser ces composés.

Cette caractérisation élective a fait l'objet de recherches de la part d'ERRERA (1) et de DE WÈVRE (2) et ce sont surtout les observations de ce dernier auteur que nous allons résumer. Nous retrouverons ici les deux groupes de réactifs signalés pour les alcaloïdes, suivant qu'ils produiront une précipitation ou une coloration.

a) **Réactifs précipitants.** — 1° *L'acide picrique en solution aqueuse* ou légèrement alcoolisée est un bon réactif des substances protéiques, qu'il précipite en jaune. Les coupes, préalablement traitées par l'alcool bouillant ou l'alcool tartrique, et par l'eau bouillante, sont laissées pendant quelques heures et même un jour dans la solution d'acide picrique. On les examine ensuite dans l'eau ou la glycérine. Ce réactif a permis à DE WÈVRE de mettre, très nettement, en évidence le protoplasme des tubes criblés et celui des cellules qui bordent le liber chez le *Cucurbita Pepo* L.

2° *Le tanin* forme avec les albuminoïdes des tannates insolubles, mais, les précipités étant incolores et peu visibles, ce réactif n'est guère utilisable.

3° *L'acide phosphomolybdique et l'acide phosphotungstique* (3) constituent des réactifs d'une extrême sensibilité. Ils peuvent déceler  $\frac{1}{100.000}$  à  $\frac{1}{200.000}$  d'albuminoïdes. On obtient des précipités jaunâtres se formant lentement *in vitro*. Pour les recherches microchimiques, on dispose les coupes dans la solution et on les y laisse une à deux heures; on examine dans l'eau ou la glycérine. Le contenu cellulaire devient granuleux et prend une teinte jaunâtre. On peut aussi faire arriver le réactif sous la lamelle et suivre la précipitation au microscope. Les préparations ne se conservent pas; au bout de très peu de temps, les tissus deviennent bleus par suite de la réduction de l'acide phosphomolybdique ou phosphotungstique.

4° *L'iodure de potassium iodé* est le meilleur des réactifs précipitants,

1. L. ERRERA : Sur la distinction microchimique des alcaloïdes et des matières protéiques. *Ann. Soc. belge de Microsc.*, 13, 73, 1889. *Recueil Inst. bot.* ERRERA, 2, 189-227, 1906.

2. A. DE WÈVRE : Recherches sur la technique microchimique des albuminoïdes. *Bull. Soc. belge de Microsc.*, 20, 91, 1894. *Recueil Inst. bot.* ERRERA, 2, 123-146, 1906.

3. Phosphomolybdate ou phosphotungstate de soude. . . . . 1 gr.  
Eau. . . . . 90 gr.  
Acide azotique concentré. . . . . 5 gr.

et le plus sensible. On emploie la solution : I, 1 gr. ; KI, 3; H<sup>2</sup>O, 100 gr.

Il donne des précipités bruns avec tous les albuminoïdes. La façon de l'employer est très simple : il suffit de déposer une goutte de réactif sur les coupes et d'examiner immédiatement. Pour une quantité assez grande d'albuminoïdes, d'alcaloïdes, de diastases, de corps gras, de glycogène, d'érythro-dextrine, on obtient une teinte brun foncé ; si la teinte est jaune pâle, les matières albuminoïdes sont en quantité bien minime ; il n'est donc pas utile d'essayer d'autres réactifs qui ne donneront que des résultats négatifs. La coloration brune ne se maintient que très peu de temps ; aussi ne faut-il pas tarder à faire les examens.

5° *L'iodure double de mercure et de potassium* est également un réactif très sensible ; malheureusement, il donne des précipités blancs et ne peut guère être utilisé. Il en est de même de *l'iodure double de cadmium et de potassium*.

6° *L'iodure double de bismuth et de potassium*, très sensible, donne un précipité jaunâtre ou orangé.

7° *Le ferrocyanure de potassium et l'acide acétique* constituent un réactif très sensible. Le précipité obtenu est blanc, et le réactif serait inutilisable en microchimie, si ZACHARIAS n'avait tourné la difficulté d'une façon très ingénieuse. Le précipité de matières albuminoïdes est lavé jusqu'à ce que les eaux de lavage ne colorent plus le perchlorure de fer, après quoi on met les préparations en contact avec du perchlorure de fer, qui les colore en bleu.

Le réactif employé est fait extemporanément en prenant :

Solution de ferrocyanure de potassium à 1 p. 100. . . . .	1 partie.
Acide acétique D = 1.063. . . . .	1 —

On laisse les coupes une heure dans le réactif, puis on les lave soigneusement avec de l'alcool à 60° jusqu'à ce que ce dernier ne colore plus le perchlorure de fer. Ces lavages terminés, les coupes sont ensuite placées dans une solution aqueuse diluée de perchlorure de fer, qui détermine la production d'un précipité bleu là où se trouvaient les matières albuminoïdes.

8° *L'acide sulfosalicylique*, employé en solution aqueuse concentrée, donne un précipité blanc avec les matières albuminoïdes. Ce précipité, mis en contact avec le perchlorure de fer, se colore en rouge intense. Les résultats obtenus avec ce réactif ne sont pas toujours satisfaisants.

9° *La réaction d'Axenfeld*, employée en chimie, ne donne pas de bons résultats en microchimie, car les membranes, certains glucosides, les composés amidés (asparagine), les alcaloïdes, jouissent des mêmes propriétés que les substances albuminoïdes ; de sorte que, si on dépose

une coupe dans une goutte de chlorure d'or au  $\frac{1}{1000}$  renfermant 1 ou 2 gouttes d'acide formique, et que l'on chauffe, tous les tissus et le contenu cellulaire se coloreront en bleu violacé.

b) **Réactifs colorants.** — Les réactifs colorants peuvent être employés aussi avantageusement que les réactifs précipitants.

1° *L'éosine*, en solution aqueuse faible, convient parfaitement. On place les coupes à colorer dans ce réactif pendant un temps plus ou moins long, une heure généralement; on laisse ensuite les préparations dans l'eau, ou mieux la glycérine, pendant une autre heure, et on obtient ainsi une localisation bien nette et apparente. Les huiles, les résines, les mucilages, les gommés, les matières pectiques ne se colorent pas sous son influence; l'amidon prend parfois une légère teinte rosée.

On pourrait employer d'autres matières colorantes: *violet de Hanslein*, *bleu d'aniline*, *bleu de quinoléine*, *brun Bismarck*, *vert dahlia*, *fuchsine*; mais les résultats sont plus concluants avec la solution d'éosine.

2° *L'acide chlorhydrique concentré* est, parmi les réactifs des matières protéiques, un des plus anciennement connus. Il les colore en violet rougeâtre plus ou moins intense. Cette réaction s'obtient plus rapidement si l'on ajoute 1/10 d'acide sulfurique concentré à l'acide chlorhydrique. Cet acide ne peut être utilisé pour les recherches microchimiques, car les teintes produites sont trop faibles pour être perçues. D'ailleurs, d'après KRASSER, il ne réagit pas de la même façon vis-à-vis des différents albuminoïdes. *L'albumine de l'orge* donne une coloration rouge foncée; *l'albumine du maïs*, une coloration brunâtre; *l'albumine de l'avoine*, une solution incolore; la *gliadine*, une solution bleuâtre; etc... Enfin, la *physostigmine*, la *sabadilline*, la *solanine*, la *vératrine*, la *scillaïne* se colorent également en rouge; il est donc indispensable de faire un traitement à l'alcool tartrique avant d'employer l'acide chlorhydrique.

Pour toutes ces raisons, nous ne recommandons pas son emploi dans la recherche des matières protéiques.

3° *Réaction de Raspail*, appelée encore *réaction de Pettenkofer*.

L'acide sulfurique seul ne donne pas de réaction colorée avec les albuminoïdes, mais, en présence d'un peu de *sucre de canne* ou de *glucose*, il donne une coloration rose ou rouge carmin. On place les coupes pendant une demi-heure environ dans une solution très concentrée de sucre de canne; on les retire, on les sèche au moyen de papier buvard et on les remet dans l'acide sulfurique concentré. Il ne faudra pas oublier que le réactif de RASPAIL colore beaucoup d'alcaloïdes en rouge.

La réaction de l'acide sulfurique en présence de sucre n'est guère recommandable à cause de l'action trop destructive de l'acide con-

centré sur les tissus végétaux. Aussi est-il préférable de lui substituer les réactions suivantes.

4° *Réaction de Mesnard*. On dépose une goutte de solution de glycérine très sucrée sur une lamelle et on y place les coupes à essayer. On met dans une cellule à bactériologie un peu d'acide chlorhydrique fumant, et on laisse la lamelle à la surface, la coupe étant tournée vers le réactif, pendant une heure ou deux. On obtient de la sorte des résultats plus nets qu'avec la méthode de RASPAIL (1).

Les substances, et en particulier les alcaloïdes, qui réagissent avec le réactif de RASPAIL, se comportent de même vis-à-vis de celui de MESNARD.

5° *L'acide nitrique concentré* ou légèrement dilué colore les substances protéiques en jaune par suite de la formation d'acide xanthoprotéique. C'est un bon réactif microchimique. On emploie une solution nitrique formée de trois parties d'acide nitrique et d'une partie d'eau; on y met les coupes jusqu'à apparition de la teinte jaune, ce qui demande quelques minutes. On les retire et, si la coloration est trop faible, on la renforce en la plongeant dans de l'eau légèrement ammoniacale qui donne du xanthoprotéinate d'ammonium plus coloré. On examine ensuite la préparation dans la glycérine ou, mieux, dans l'eau. La coloration varie du jaune pâle au jaune d'or, suivant la quantité de matières protéiques. Les huiles, les membranes cellulosiques, l'amidon ne se colorent pas sous son influence; les membranes lignifiées jaunissent.

La sensibilité de ce réactif est toutefois moins grande que celle du réactif suivant.

6° *Réactif de Millon*. Ce réactif, indiqué par MILLON en 1849, se prépare en faisant réagir poids égaux de mercure et d'acide azotique ( $\text{AzO}^3\text{H}$ ,  $\frac{4}{3}\text{H}^2\text{O}$ ). La réaction se fait spontanément; si elle se ralentit, on chauffe doucement, jusqu'à dissolution complète du métal; on ajoute deux volumes d'eau à un volume de solution mercurique. Il se forme un dépôt cristallin. On décante l'eau mère qui surnage et c'est ce liquide que l'on utilise (2).

On dépose des coupes très fines sur une lame avec une goutte de réactif; après avoir recouvert avec une lamelle, on chauffe très doucement, jusqu'à apparition d'une teinte rouge brique. On évite d'atteindre l'ébullition, car la coloration pourrait disparaître.

Le réactif ainsi employé donne avec les matières protéiques une coloration rouge brique très intense; s'il n'y a que peu de substance, cette

1. MESNARD : Sur les transformations que subissent les substances de réserve pendant la germination des graines. *Bull. Soc. Bot.*, 40, 35-42, 1893.

2. MÉHU : Traité pratique et élémentaire de chimie médicale. Paris, Asselin, 26, 1870.

coloration est rose. La teinte obtenue ne doit pas être brune. Ce réactif donne en effet des colorations avec tous les composés aromatiques qui ont une fonction phénolique (*phénol, thymol, résorcine, eugénol, acide paraoxyphénylpropionique*), avec les éthers phénoliques (*anisol, phénétol, acide oxyphénylacétique*), avec les aldéhydes (*aldéhyde salicylique, vanilline*). Enfin les *tanins* donnent également une coloration rouge avec le réactif de MILLON. Comme les végétaux renferment souvent des composés tanniques, il faudra employer cette réaction avec beaucoup de prudence et n'en admettre les indications qu'après avoir fait bouillir les coupes dans l'alcool tartrique, puis dans l'eau.

Malgré ces inconvénients, le réactif de MILLON est encore le réactif de choix pour la recherche des matières albuminoïdes.

7° *Le réactif de Fröhde* colore les substances protéiques en bleu foncé. Il n'est pas très recommandable, parce qu'il exige un acide sulfurique absolument concentré qui détruit les tissus.

8° *Réaction d'Adamkiewicz*. Les substances albuminoïdes traitées par un mélange à parties égales d'acide sulfurique concentré et d'acide acétique glacial, se dissolvent en donnant lieu à la production d'une coloration pourpre, à reflets verts (1).

C'est un bon réactif microchimique. On dépose une goutte de la solution acéto-sulfurique sur la coupe, et on laisse agir à froid, ou on chauffe très légèrement. Il se fait une coloration rouge au contact des albuminoïdes. La réaction d'ADAMKIEWICZ serait due à la présence des groupes indoliques et scatoliques qui se trouvent parmi les produits de la fragmentation des matières albuminoïdes. Elle se produit également avec les peptones.

9° *L'alloxane* (mésoxalylurée) en solution aqueuse, indiquée par KRASSER, colore les albuminoïdes en rouge pourpre. On dépose les coupes dans une goutte de solution aqueuse d'alloxane pendant un certain temps; celles-ci prennent une coloration pourpre dans les cellules renfermant des matières albuminoïdes.

KLEBS (2) a fortement critiqué le réactif préconisé par KRASSER, et MANGIN et DE VÈVRE n'ont obtenu aucune réaction par cette méthode.

10° *La réaction de Reichel et Mikosh*. On emploie une solution alcoolique renfermant des traces de benzaldéhyde; on y ajoute un excès d'acide sulfurique dilué de son volume d'eau et renfermant des traces de sulfate ferrique. On obtient avec les substances albuminoïdes, en chauffant légèrement, une coloration bleue intense. On peut remplacer

1. On peut remplacer cet acide par l'acide glyoxilique.

2. KLEBS: Einige Bemerkungen zu der Arbeit von KRASSER « Untersuchungen über das Vorkommen von Eiweiss in der pflanzlichen Zellhaut ». *Bot. Zeit.*, 45, 697-708, 1887.

l'acide sulfurique par l'acide chlorhydrique additionné, dans ce cas, de chlorure ferrique.

DE WÈVRE a essayé ce réactif en microchimie et dit avoir obtenu de bons résultats. Il opère de la façon suivante : les coupes sont abandonnées une heure ou deux dans la solution de benzaldéhyde; on les retire, les sèche avec du papier buvard, puis on les monte dans une goutte ou deux d'acide sulfurique ferrugineux étendu. La lame est ensuite chauffée doucement jusqu'à apparition d'une coloration bleue intense. Il faut parfois chauffer jusqu'à l'ébullition.

Ce réactif n'est pas propre aux matières albuminoïdes. Bien d'autres corps réagissent en présence du mélange de REICHEL et MIKOSH. Citons : le *tanin*, les *alcaloïdes*, la *salicine* qui donne un précipité rouge brique, la *solanine*, qui donne une solution rouge carmin devenant violette, etc.

Il faudra donc débarrasser les coupes de tous ces produits par un traitement préalable à l'alcool bouillant, à l'alcool tartrique, à l'eau bouillante. La réaction ne réussit en outre qu'en présence d'une forte proportion de matières albuminoïdes.

11° *La réaction du biuret ou de Piotrowski* peut être employée en microchimie. Pour l'effectuer, on prend des coupes assez épaisses, on les laisse séjourner une demi-heure dans la solution concentrée de sulfate de cuivre ou d'acétate de cuivre, puis on les lave à l'eau pour enlever l'excès de sulfate ou d'acétate. Il faut compter une heure pour ce lavage. On les dépose ensuite dans une solution concentrée de potasse. Il apparaît une coloration mauve, plus ou moins intense, dans les tissus renfermant les matières albuminoïdes. La chaleur accentue un peu la teinte.

Ce réactif n'est pas très sensible, mais il permet de caractériser, avec certitude, les matières albuminoïdes, car peu de substances (à part le biuret) donnent une réaction semblable.

12° *La réaction de Guesda*. Cette réaction est du même genre que la précédente. On traite la substance supposée de nature albuminoïde par une solution concentrée de sulfate de nickel saturée d'ammoniaque.

En histochimie, on emploie le réactif soit à froid, en y laissant les coupes plusieurs heures, soit à chaud si l'on veut obtenir un résultat immédiat. Les albuminoïdes se colorent en jaune ou en bleu sous son action, et cette dernière teinte devient jaune ou jaune orangé si l'on ajoute de la potasse.

Ce réactif donne de bons résultats, mais, d'après SPENCER LE MOORE qui en a préconisé l'emploi, les tanins donneront des colorations analogues. Il faudra donc les éliminer de la coupe.

En résumé, il faudra, pour localiser les albuminoïdes et les distinguer des alcaloïdes, employer plusieurs réactifs.

On emploiera de préférence, par ordre de sensibilité : l'iodure de potassium iodé, la solution aqueuse d'éosine, le réactif de MILLON, l'acide picrique, la réaction de GUESDA, ou la réaction de l'acide azotique (acide xanthoprotéique) et enfin la réaction de PIOTROWSKI ou celle de REICHL et MIKOSH.

Pour avoir de bons résultats, il est indispensable de coaguler au préalable les matières albuminoïdes par l'emploi d'alcool absolu. On y plonge les organes entiers et on les y laisse quelques jours. L'alcool enlève aux tissus : les résines, les tanins, les huiles essentielles, la chlorophylle, la phloroglucine, les matières colorantes, les alcaloïdes (surtout si l'on ajoute à l'alcool de l'acide tartrique, qui favorise de plus la précipitation des matières albuminoïdes). Par contre, l'alcool précipite les diastases, les gommes, les mucilages, les corps gras, l'asparagine, l'inuline.

Il faudra faire passer les coupes, après action de l'alcool, dans l'éther ou le chloroforme qui enlèvera les cires, les corps gras insolubles dans l'alcool. Quant aux gommes, mucilages, matières pectiques, il suffira d'un traitement à l'eau bouillante.

On arrive ainsi à avoir des tissus ne renfermant plus que des matières albuminoïdes et dans lesquels les réactions indiquées précédemment se font avec une très grande netteté.

Lorsqu'on voudra seulement séparer les alcaloïdes des matières protéiques, on aura recours, ainsi que nous l'avons dit, à l'emploi de l'alcool tartrique, qui dissout les alcaloïdes beaucoup mieux que l'alcool absolu et précipite très rapidement les matières protéiques. L'alcool chlorhydrique, quelquefois employé par ERRERA, donne de moins bons résultats.

Après la disparition des alcaloïdes par le séjour dans l'alcool tartrique, on pourra caractériser les matières albuminoïdes par les réactions qui leur sont propres et surtout celles de MILLON et de PIOTROWSKI.

#### 4. — Justification de la méthode générale de distinction des alcaloïdes et des matières protéiques.

La distinction des alcaloïdes et des matières protéiques au moyen du réactif iodo-ioduré a été tout particulièrement étudiée par L. ERRERA<sup>(1)</sup>, lorsqu'il voulut démontrer la valeur de la méthode générale de localisation des alcaloïdes qu'il venait d'indiquer avec MAISTRIAU et CLAUTRIAU. Il prit comme exemple le *Colchicum autumnale* L., le *Conium maculatum* L. et le *Lupinus elegans* H. B. et K., parmi les plantes renfermant à la fois alcaloïdes et matières protéiques, les filaments de *Spirogyra crassa* Kuetz. maintenus quelque temps dans une solution de peptone, et là

1. L. ERRERA : *Loc. cit. Ann. Soc. belge de Microsc.*, 13, 73, 1889.

zygospore de *Mucor Mucedo* L., pour les végétaux ne contenant pas de matières alcaloïdiques.

Nous ne donnerons pas ici les résultats obtenus avec les plantes à alcaloïdes, qui seront étudiées par la suite, et nous ne retiendrons que ceux concernant les recherches sur la Spirogyre et la zygospore de *Mucor*.

Les cellules du *Spirogyra* à l'état frais ne donnent aucune réaction d'alcaloïdes ou de peptones. Par l'iodure de potassium iodé, seul ou avec l'acide acétique, il n'y a ni précipité, ni coloration du suc cellulaire.

Par l'acide phosphomolybdique, on n'obtient aucun précipité.

Les cellules traitées par le réactif de MILLON et chauffées légèrement, ne présentent qu'une faible teinte jaune du protoplasma.

L'acétate de cuivre et la potasse, réaction de PIOTROWSKI, ne donnent aucune coloration.

Après dix-huit heures de séjour dans une solution concentrée de peptone, les résultats sont tout différents. Les filaments, qui étaient vivants, ont maintenant leur protoplasme irrégulièrement contracté et plus ou moins désorganisé. En lavant rapidement à l'eau et traitant par les réactifs, on s'assure d'une façon positive que la peptone a pénétré dans les cellules et s'y trouve en solution dans l'espace vide entre le protoplasme contracté et la membrane cellulaire, et même, dans certains cas, dans la vacuole centrale qu'entoure le protoplasme contracté. L'iodure de potassium iodé produit dans les cellules un précipité granuleux, brun orangé; l'acide phosphomolybdique, un précipité finement granuleux, jaunâtre, qui remplit la cellule. Chauffés légèrement avec le réactif de MILLON, les *Spirogyra* « peptonés » se colorent en rouge brique. Par l'acétate de cuivre et la potasse à froid, ils présentent une coloration mauve pâle.

Sur ces filaments de *Spirogyra* ainsi peptonés artificiellement, on laisse agir les liquides : eau, alcool absolu, alcool tartrique, alcool chlorhydrique, pendant un temps variable, mais qui aurait été suffisant pour dissoudre les alcaloïdes dans les cellules végétales.

On examine alors à nouveau les cellules au moyen des réactifs précédents. Au bout de trois heures et demie, on peut constater qu'avec les filaments laissés dans l'alcool absolu, on obtient des réactions tout aussi fortes qu'avant immersion dans l'alcool : les cellules sont restées bourrées de peptone.

Les filaments traités par l'alcool tartrique sont opaques, avec un précipité blanc, quoique un peu moins abondant que dans le cas précédent. L'iodure de potassium iodé donne un beau précipité granuleux, brun orangé, plus manifeste que dans les filaments non traités. Cela tient à la présence de l'acide qui favorise la précipitation des peptones par l'iode.

Les filaments traités par l'alcool chlorhydrique paraissent moins opaques. Les réactions par l'acide phosphomolybdique et l'iodure de potassium iodé sont manifestement moins fortes qu'au début.

Après vingt-quatre heures de contact, on constate que dans l'alcool absolu seul, la quantité de peptone n'a pas diminué; dans les autres liquides, la diminution s'est accentuée, principalement avec l'alcool chlorhydrique.

Dans l'eau, la peptone disparaît peu à peu et après vingt-quatre heures de contact on n'obtient plus les réactions caractéristiques de ce composé.

Ainsi donc, dans la précipitation des peptones, les trois alcools se rangent dans l'ordre décroissant : alcool absolu, alcool tartrique, alcool chlorhydrique.

Pour l'extraction des alcaloïdes, c'est la gradation inverse que l'on observe.

Il sera donc préférable d'employer l'alcool tartrique, qui a l'avantage de donner des réactions mieux caractérisées dans les cellules, surtout avec le réactif iodo-ioduré.

La caractérisation de la matière albuminoïde de la zygospore de *Mucor* offre un bel exemple permettant de contrôler la valeur de la méthode de différenciation des alcaloïdes et des matières protéiques. C'est une manipulation très intéressante, assez difficile à exécuter au début, mais qui se fait très facilement après quelques tâtonnements inévitables. Nous avons pu faire cette étude sous la direction d'ERRERA au début de nos recherches sur la localisation des principes actifs, et les résultats si nets obtenus avec une cellule ainsi isolée sous le microscope, nous avaient, à cette époque, vivement impressionné.

Pour cette étude, on récolte des zygospores de *Mucor Mucedo* L. dans un crottin de cheval cultivé sous cloche pendant plusieurs mois; on dépose une parcelle de crottin sur une lame de verre assez grande, placée elle-même sur une feuille de papier blanc. On se fixe dans l'œil une loupe d'horloger, de façon à avoir les mains libres, et l'on dissocie le crottin au moyen de deux aiguilles. Les zygospores se voient comme autant de points noirs sur le fond blanc, il est donc facile de les recueillir.

A la maturité, la zygospore se compose d'une *exospore* noire et opaque, d'une *endospore* incolore et transparente, et d'un contenu cellulaire. Si, au moyen d'une aiguille, on presse avec précaution sur la zygospore, pendant qu'on l'observe au microscope binoculaire, il est facile de faire éclater l'exospore et de mettre en liberté l'endospore et son contenu, tous deux intacts. ERRERA appelle les zygospores ainsi traitées des *zygospores pelées*.

On fait alors les réactions microchimiques sur de semblables zygospores.

Le contenu des zygospores pelées consiste en une couche pariétale, modérément épaisse, de protoplasme incolore et hyalin, enveloppant une grosse goutte centrale d'huile incolore, transparente, très réfringente.

L'*iodure de potassium iodé*, peu concentré, au 1/450, ne pénètre que lentement dans la zygospore pelée. Après quelque temps, l'endospore se colore en jaune pâle, le protoplasme et l'huile restant d'abord incolores. Enfin, au bout d'une vingtaine de minutes, l'huile jaunit légèrement, un précipité jaune granuleux se produit dans le protoplasme, s'y étend de proche en proche, et l'envahit tout entier. Sa teinte passe ensuite à l'orangé, au brun kermès, rappelant les précipités d'alcaloïdes ou de certaines matières protéiques. Ces phénomènes de coloration se produisent d'emblée si l'on emploie une *solution d'iode concentrée*; le protoplasme devient même brun rouge foncé.

Par l'action d'une chaleur immodérée, la coloration brune du protoplasme ne pâlit nullement; il ne s'agit donc pas de glycogène.

Par l'*acide phosphomolybdique*, le protoplasme se trouble après avoir longtemps résisté à l'action du réactif.

Par l'*iodure double de mercure et de potassium*, le protoplasme se remplit d'un abondant précipité blanc à peine jaunâtre.

Ces réactions sont communes aux alcaloïdes et aux matières protéiques; il s'agit maintenant de les différencier.

On place donc des zygospores pelées en macération dans l'alcool absolu, l'alcool tartrique ou chlorhydrique, pendant un temps suffisant. Après action de l'alcool absolu ou de l'alcool tartrique, le protoplasme a conservé son aspect: il est homogène et hyalin; traité par l'*iodure de potassium iodé*, il donne comme auparavant le précipité jaune, puis orangé, puis brun orangé et enfin brun kermès; l'*acide phosphomolybdique* donne un précipité jaune pâle.

Ces précipités sont bien dus à une matière albuminoïde et non à un alcaloïde. D'ailleurs, une zygospore pelée, chauffée légèrement avec le réactif de MILLON, présente une belle coloration rouge dans toute la zone protoplasmique. La coloration, d'après ERRERA, paraît siéger dans une matière liquide imbibant le protoplasme; on obtient également un résultat très net par la réaction de PIOTROWSKI. Si l'on place pendant une demi-heure une zygospore pelée dans une *solution d'acétate* ou de *sulfate de cuivre*, qu'on la lave rapidement à l'eau distillée et qu'on la traite ensuite par la *potasse* à froid, le protoplasme se colore en mauve pâle ou violet intense, suivant le titre de la solution cuivrée utilisée.

L'immersion pendant deux jours de la zygospore pelée dans l'alcool absolu, l'alcool tartrique ou l'acide chlorhydrique, n'empêche pas la réaction des matières albuminoïdes de se produire. ERRERA, en se basant toujours sur des réactions microchimiques, croit pouvoir affirmer

que cette matière albuminoïde appartient au groupe des globulines.

Si, maintenant, on imprègne artificiellement des zygospores, de *colchicine*, on peut constater au moyen des réactifs de coloration ( $\text{SO}^4\text{H}^2$ .HCl, etc.), la pénétration de cet alcaloïde dans la cellule végétale. Mais après un séjour assez court dans l'alcool, l'alcool tartrique ou l'alcool chlorhydrique, l'alcaloïde se dissout et les réactifs précédents ne peuvent plus déceler sa présence.

On voit donc que la méthode indiquée par ERRERA permet de séparer, avec la plus grande facilité, les alcaloïdes des matières protéiques et nous rend ainsi de grands services dans l'étude de la localisation des principes actifs.

### III

## LOCALISATION ET RÉPARTITION DES ALCALOÏDES DANS LES DIVERSES FAMILLES (1)

### A. Alcaloïdes proprement dits.

#### CONIFÈRES

##### Taxine.

La *Taxine*, principe actif du *Taxus baccata* L., a été isolée par MARMÉ. C'est une substance blanche cristalline, fusible à 82°, très peu soluble dans l'eau, soluble dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, la benzine, le sulfure de carbone; insoluble dans l'éther de pétrole.

**Caractères microchimiques.** — Les réactions permettant sa recherche microchimique sont les suivantes :

1° L'iodure de potassium iodé : précipité brun kermès, soluble dans l'hyposulfite de soude;

2° L'acide phosphomolybdique : précipité jaunâtre;

3° Le bichromate de potasse au 1/20 : précipité brun. Ce dernier réactif détruit la chlorophylle et éclaircit les préparations. Les résultats obtenus sont alors très nets;

4° L'acide sulfurique concentré : coloration rouge (MARMÉ);

5° L'acide sulfurique et vanadate d'ammonium (réactif de MANDELIN) : teinte rouge clair;

6° L'acide sulfurique et sucre (réaction de RASPAIL) : belle coloration rouge cerise;

7° Le bichlorure de mercure : précipité blanc sale.

**Méthodes de localisation.** — La localisation de la taxine a été faite par L. SAUVAN (2), puis, plus récemment, par RUSSELL (3).

La méthode employée est celle d'ERRERA.

D'après SAUVAN, le réactif de MANDELIN, additionné d'un peu d'eau,

1. Nous suivons l'ordre des familles botaniques adopté par BENTHAM et HOOKER.

2. L. SAUVAN : Localisation des principes actifs dans quelques végétaux. *Journ. Bot.* 10, 126-140, 157-162, 1896.

3. RUSSELL : Recherches sur la localisation de la taxine chez l'II. *Assoc. franç. avanc. d. Sc.*, Montauban, 693-696, 1901.

donnerait également de bons résultats; il est très sensible et a l'avantage de ne pas trop réagir sur les tannoïdes.

L'acide sulfurique concentré donne une teinte rouge pourpre caractéristique, qui disparaît après quelques instants, pour faire place à une teinte rouge brun persistante.

**Répartition de la Taxine dans le *Taxus baccata* L. — Racine.** — L'alcaloïde se trouve dans les deux premières assises périphériques, quelques cellules des parenchymes cortical et libérien, dans toutes les cellules du péricycle. Les tubes criblés n'en contiennent jamais (SAUVAN).

*Tige.* — Dans les bourgeons terminaux vus en coupe longitudinale, la taxine apparaît à une courte distance des cellules initiales. On la trouve dans le parenchyme conjonctif central, sans localisation bien précise. Les coupes transversales, pratiquées à une certaine distance au-dessous du bourgeon terminal, permettent de voir qu'à ce niveau la taxine est surtout localisée dans l'épiderme et quelques cellules de l'écorce; le péricycle et la zone pérимédullaire n'en renferment que des traces.

Dans les rameaux de l'année, on constate la présence des cellules à taxine dans la partie profonde de l'écorce, ainsi que dans le péricycle et le liber. Dans les tiges âgées, c'est surtout le liber secondaire qui est riche en alcaloïdes.

Dans les régions jeunes, le réactif de MANDELIN colore le contenu cellulaire en rougeâtre; dans les parties un peu plus âgées, on obtient une teinte rouge orange et, dans les régions âgées, la coloration est presque rouge brique (RUSSELL).

*Feuille.* — Les feuilles du bourgeon, à peine ébauchées, renferment de la taxine dans les cellules épidermiques: d'abord dans les cellules situées au-dessus de la nervure médiane, puis dans toutes les cellules de l'épiderme. La taxine apparaît ensuite dans quelques cellules de l'endoderme et du périodesme, puis dans le parenchyme foliaire voisin du faisceau.

Dans les feuilles âgées, l'épiderme et l'endoderme sont toujours le lieu de prédilection de l'alcaloïde. On en trouve moins dans le périodesme et le parenchyme foliaire. Dans le limbe, les cellules à taxine forment des groupes de trois ou quatre éléments dans le parenchyme lacuneux. Il y en a naturellement dans les deux épidermes.

La taxine ne disparaît pas dans les tiges et les feuilles soumises à la dessiccation. Elle existe dans les mêmes cellules que les substances tannoïdes du *Taxus baccata* L. que l'on peut mettre en évidence par le réactif de BRÆMER, l'acétate de cuivre ou les sels de fer. C'est là un fait que nous avons signalé pour de nombreux glucosides et alcaloïdes.

La proportion de tanin, dans les organes jeunes, semble inférieure à

celle de l'alcaloïde; dans les organes adultes, on constate souvent le phénomène inverse.

*Graine.* — Toutes les cellules de l'albumen et de l'embryon renferment de la taxine. La graine paraît moins riche en principe actif que les organes végétatifs (SAUVAN).

Nous avons repris la localisation de la taxine, mais nous n'avons pas obtenu de bons résultats. Nos essais ont été faits au mois de février.

La localisation de la taxine n'est pas très nette. Par le *réactif de MANDELIN* ou l'acide sulfocérique préparé avec  $\text{SO}^4\text{H}^2 + \text{H}^2\text{O}$ , on obtient dans la tige jeune ou âgée une coloration rose dans toute la zone libérienne et péryclicque, pendant que toute la zone corticale prend une teinte verte intense. Dans les jeunes rameaux, l'épiderme se colore en rose, ainsi que quelques cellules au pourtour de la moelle.

Mais il est impossible de dire quelles sont les cellules qui donnent la réaction, et on ne peut même pas affirmer que cette réaction est bien due à la taxine. Jamais nous n'avons obtenu la teinte rouge brique signalée par RUSSELL.

L'iodure de potassium iodé donne de meilleurs résultats: on voit bien un précipité brun dans les cellules épidermiques de la jeune tige, mais il ne semble pas y avoir d'alcaloïdes dans les jeunes éléments du liber; en tout cas, on n'observe un précipité que dans très peu de cellules; cependant, nous avons vu que c'est cette région qui se colore le plus par le réactif de MANDELIN. C'est pour cette raison que nous faisons toutes nos réserves au sujet de la caractérisation de l'alcaloïde par ce réactif.

On trouve, par contre, un précipité très net dans certaines cellules du liber plus âgé, dans le pérycycle et aussi dans quelques éléments du parenchyme cortical. Il est indispensable de faire des coupes très fines pour arriver à voir cette précipitation, à cause de la petitesse des éléments libériens.

Dans la feuille, les cellules épidermiques, spécialement celles situées au-dessus de la nervure (surtout dans la très jeune feuille), quelques cellules de l'endoderme et du périodesme, et quelques cellules du mésophylle, assez souvent groupées par trois ou quatre, donnent la réaction des alcaloïdes.

Toutes ces cellules à alcaloïde donnent en outre les réactions des tanins.

## PALMIERS

### Alcaloïdes de l'*Areca Catechu* L.

L'*Areca Catechu* L. renferme quatre alcaloïdes: l'*Arécoline*,  $\text{C}^8\text{H}^{13}\text{AzO}^2$ ; l'*Arécaïne*,  $\text{C}^7\text{H}^{11}\text{AzO}^2$ ; l'*Arécaïdine*,  $\text{C}^7\text{H}^{11}\text{AzO}^2$ , isomère du précédent; la *Guvacine*,  $\text{C}^6\text{H}^9\text{AzO}^2$ .

L'*Arécoline* est le principe le plus abondant dans la noix d'Areca. C'est un liquide huileux, incolore, soluble en toutes proportions dans l'eau, l'alcool, le chloroforme et l'éther. C'est un éther méthylique de l'arécaïdine.

L'*Arécaïdine* est un alcaloïde cristallisé, fondant à 223°, facilement soluble dans l'eau, presque insoluble dans l'alcool absolu, insoluble dans l'éther, le chloroforme, le benzène.

La *Guvacine*, corps cristallisé, fondant à 271°, est insoluble dans l'alcool, l'éther, la benzine, le chloroforme, et facilement soluble dans l'eau.

L'*Arécaïne*, qui est également une base cristallisée, fond à 213° et possède les mêmes propriétés vis-à-vis des solvants.

**Caractères microchimiques.** — Les réactions microchimiques de l'arécoline sont les suivantes :

- 1° L'*iodure de potassium iodé* : précipité brun foncé ;
- 2° L'*iodure de bismuth et de potassium* : précipité abondant qui cristallise peu à peu ;
- 3° L'*iodure de mercure et de potassium* : précipité blanc, soluble dans un excès d'eau ;
- 4° Les *acides phosphotungstique et phosphomolybdique* : cristaux blanc jaunâtre ;
- 5° Le *chlorure d'or* : précipité rougeâtre ;
- 6° Le *platinocyanure de potassium* : précipité blanc, cristallin ;
- 7° L'*acide picrique* : précipité jaune en grappe ;
- 8° L'*acide sulfurique*, additionné de *molybdate d'ammonium*, de *sulfate de cérium*, de *séleniate de soude*, ne donne aucune coloration avec l'arécoline (BARTH).

**Méthodes de localisation.** — La localisation des alcaloïdes dans les semences d'*Areca Catechu* a été réalisée par H. BARTH, au moyen de la précipitation par l'*iodure de bismuth et de potassium*, contrôlée par les réactions de l'*acide picrique*, du *chlorure d'or*, du *platinocyanure de potassium*, ou encore des *vapeurs d'iode* qui donnent une coloration rouge brun à l'intérieur des cellules.

**Répartition de l'alcaloïde.** — Dans une étude sur le développement de la semence d'*Areca Catechu* L. et l'importance de son tégument ruminé, OSENBRÜG (1) avait prétendu que l'alcaloïde se trouvait dans ce tégument. Il avait épuisé 0,50 d'albumen et 0,50 de téguments par l'acide acétique dilué à 20 p. 100, pendant deux jours. Les solutions filtrées donnaient, avec l'iodure de bismuth et de potassium, un précipité rouge avec les téguments, et à peine jaunâtre avec l'albumen.

1. OSENBRÜG : Ueber die Entwicklung des Samens der *Areca Catechu* L. und die Bedeutung der Ruminationen. *Dissert.*. Marburg, 1894.

H. BARTH (1) combat cette opinion, et prouve que les alcaloïdes se trouvent exclusivement dans l'albumen. Il supposait que les parties tégumentaires n'étaient pas suffisamment débarrassées de l'albumen, mais cela ne suffirait pas à expliquer la différence d'intensité des deux réactions.

O. TUNMANN (2) a repris l'étude de cette localisation. Il essaya d'abord l'hexanitrodiphénylamine qui, d'après ROSENTHALER et GÖRNER, donne, avec l'arécoline, un précipité cristallisé. Ses résultats furent négatifs. Il en fut de même avec le permanganate de potasse en solution à 1 p. 100. Ces réactifs ne sont probablement pas assez sensibles pour déceler la faible quantité d'arécoline contenue dans la noix d'Arec.

Par contre, il a obtenu de bons résultats avec l'acide picrolonique (acide 1, eau 20, alcool 30); on monte la préparation dans le réactif et on entoure la lamelle de cire, de façon à éviter la concentration du liquide. Il se forme bientôt des cristaux d'acide picrolonique très caractéristiques: ce sont des paillettes, rarement de longs prismes, qui se trouvent dans toute la solution, et après deux jours de contact, on observe dans l'intérieur des cellules de l'albumen des sphérocristaux provenant de la précipitation de l'arécoline. On ne constate aucune réaction dans le tégument; les conclusions de BARTH se trouvent ainsi confirmées.

## LILIACÉES

### 1. — Colchicine.

L'étude du Colchique (*Colchicum autumnale* L.) fut à peine ébauchée, en 1810, par MORETTI et MELANDRI-CONTESSI. Dix ans plus tard, PELLETIER et CAVENTOU isolèrent une substance basique qu'ils crurent être identique à la vératrine. BUCHNER, en 1832, retira de cette plante un produit, qui n'était autre chose que de la colchicine impure, auquel il donna le nom d'*Extractif amer du Colchique*. L'année suivante, GEIGER et HESSE purent extraire des semences du Colchique un produit cristallisé auquel ils donnèrent le nom de *Colchicine*, mais qu'OBERLIN démontra n'être qu'un mélange complexe. Ce fut HUBLER qui, le premier, en 1884, réussit à isoler à l'état de pureté l'alcaloïde du *Colchicum autumnale* L. Depuis, l'étude de ce composé a été reprise par HERTEL, BENIER, ZEISEL et HOUDÉ.

La *Colchicine* cristallise en prismes orthorhombiques; sa formule

1. HERMANN BARTH: Studien über den mikrochem. Nachweis von Alkaloid. in *Arzneidrogen, Arch. d. Pharm.*, 236, 354-357, 1898, et *Dissert.*, Zurich, 43, 1898.

2. O. TUNMANN: Zur Mikrochemie der Arekanuss. *Pharm. Post.*, 44, 703-706, 1911.

est  $C^{22}H^{25}AzO^6, H^2O$ . Elle fond à  $145^\circ$ ; elle se dissout très aisément dans l'eau et dans l'alcool, à peine dans l'éther, elle est insoluble dans l'éther de pétrole. Sous l'action des acides minéraux, elle se convertit, même à froid, en une substance cristallisée, la *Colchicine*,  $C^{21}H^{23}AzO^6$ . En même temps, il y a formation d'alcool méthylique, ainsi que le fit remarquer ZEISEL.

**Réactions microchimiques.** — Les réactions les plus caractéristiques de la colchicine, susceptibles d'un emploi facile dans les recherches microchimiques, sont les suivantes :

1° L'*acide sulfurique* donne une couleur jaune intense, très persistante, aux cristaux de colchicine. La solution aqueuse de l'alcaloïde se colore de la même façon ;

2° L'*acide chlorhydrique* donne la même réaction ;

3° L'*acide azotique*, de densité 1,40, produit une coloration violette qui passe au brun, puis au jaune.

L'addition d'acide azotique ou d'azotate de potasse à une solution de colchicine dans l'acide sulfurique concentré donne une coloration violette qui devient brune, puis jaune pâle, moins intense que la coloration jaune de la solution sulfurique primitive. Dans une solution sulfurique diluée, l'addition d'acide nitrique ou de nitrate de potasse ne produit pas de coloration violet brun.

Si, à cette solution sulfurique et nitrique devenue jaune pâle, on ajoute de la potasse caustique, on obtient une coloration rouge lorsque l'alcalinité est bien prononcée ;

4° Le *réactif d'ERDMANN* donne une coloration bleue passagère ;

5° Le *réactif de FRÖHDE* donne une coloration jaune, devenant verdâtre, puis redevenant jaune pur après vingt-quatre heures ;

6° Le *perchlorure de fer* colore la solution aqueuse de colchicine en brun orange, sans donner de précipité ;

7° Le *tanin* donne un précipité blanc laiteux ;

8° L'*acide phosphomolybdique* et l'*acide phosphotungstique* donnent un précipité jaunâtre, devenant bleuâtre ;

9° L'*iodure double de mercure et de potassium* ne donne pas de précipité, à moins d'ajouter de l'acide chlorhydrique ; dans ce cas, on obtient un précipité jaunâtre, granuleux au microscope ;

10° Le *chlorure d'or* provoque la formation d'un précipité jaune amorphe.

11° Le *chlorure de platine*, le *platinocyanure de potassium*, le *bichlorure de mercure*, le *bichromate de potassium*, le *sulfocyanate de potassium*, ne donnent aucune réaction ;

12° L'*iodure de potassium iodé* ne donne également rien en solution neutre. Acidulé par l'acide chlorhydrique ou l'acide sulfurique, il donne un précipité brun orange ;

13° L'iodure double de bismuth et de potassium donne la même réaction ;

14° L'acide picrique donnerait des cristaux dans une solution de colchicine fortement chlorhydrique (BARTH) ;

15° L'acide chlorhydrique et l'hypochlorite de soude donnent une coloration rose (PASCHKIS).

La localisation de la colchicine a été étudiée par BORSOW (1) [1874], LINDT (2) [1884], ERRERA, MAISTRIAU et CLAUTRIAU (3) [1887] ; puis par ROSOLL (4) et, plus récemment, par GIACOMO ALBO (5).

**Méthodes de localisation. Mode opératoire.** — En employant 1° l'acide sulfurique ; 2° l'acide sulfurique additionné d'acide azotique ou d'azotate de potasse ; 3° l'iodure de potassium iodé ; 4° l'iodure double de mercure et de potassium, ERRERA, MAISTRIAU, CLAUTRIAU parvinrent à localiser la colchicine avec une très grande netteté dans le *Colchicum autumnale* L.

La méthode générale, au moyen de l'iodure de potassium iodé, et la méthode particulière de coloration à l'aide d'un acide, se contrôlent mutuellement. Ces deux réactions sont si nettes que c'est même l'exemple classique que l'on devrait choisir pour enseigner aux débutants les méthodes de localisation.

1° *Localisation par l'acide sulfurique ou l'acide chlorhydrique.* — On dépose sur la lame porte-objet une goutte d'acide sulfurique dilué et on monte directement la coupe dans ce liquide. On peut également, après un contact de quelques instants, retirer la préparation et l'examiner dans la glycérine. On obtient, dans ces conditions, une coloration jaune serin, très nettement localisée dans chaque cellule et ne diffusant en aucune façon dans les éléments voisins. Une coupe identique, mise dans l'alcool tartrique pendant une demi-heure, puis lavée à l'eau pour enlever l'excès d'acide tartrique (qui, par suite de sa décomposition par l'acide sulfurique, générerait l'observation), est enfin portée dans le réactif. On n'obtient, dans ces conditions, aucune coloration jaune. La même réaction faite sur des coupes abandonnées dans l'eau distillée pendant une demi-heure, montre encore très nettement, mais d'une façon moins

1. BORSOW : Beiträge zur Histochemie der Pflanze. *Bot. Zeit.*, **32**, 38, 1874.

2. LINDT : Ueber d. mikrochem. Nachweis von Brucin u. Strychnin. *Zeitschr. f. wiss. Mikrosk.*, **4**, 237-240, 1884.

3. ERRERA, MAISTRIAU, CLAUTRIAU : Premières recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes dans les plantes. *Bull. Soc. belge de Microsc.*, **12**, 5-46, 1885-1886 ; *Recueil Inst. bot.* ERRERA. **2**, 147-183, 1906.

4. ROSOLL : Ueber den mikrochemischen Nachweis der Glycoside und der Alkaloïde in den vegetab. Geweben. *Jahresb. der niederösterr. Landes-Realgymnasiums zu Stockerau*, **25**, 1889-1890.

5. GIACOMO ALBO : Sur la signification physiologique de la colchicine dans les différentes espèces de *Colchicum* et de *Merendera*. *Arch. des Sc. phys. et nat. de Genève*, **12**, 227-236, 1901.

intense que dans des coupes non traitées par l'eau, la présence de la colchicine. L'alcool tartrique a donc soustrait à l'action de l'acide sulfurique un composé que l'eau seule était incapable d'enlever dans les mêmes conditions. Ce corps n'est autre que la colchicine.

L'acide chlorhydrique concentré, ou même dilué à parties égales, donne également une très belle coloration jaune.

2° *Localisation par l'acide sulfurique additionné d'acide azotique ou d'azotate de potasse.* — On fait un mélange d'une goutte d'acide azotique concentré et de cinq gouttes d'acide sulfurique concentré; on y place les coupes pendant quatre à cinq secondes. Directement, à l'œil nu, on voit la coloration primitivement jaune devenir violette; à ce moment, on retire la préparation, on la monte sur une lame sèche et l'on peut très facilement remarquer que, dans chaque cellule à colchicine, la coloration violette, qui dure au maximum une minute, redevient alors jaunâtre.

Pour faire la réaction au moyen de l'acide sulfurique et du nitrate de potasse, il faut opérer de la façon suivante: on dépose sur une lame des cristaux de nitrate de potasse finement pulvérisés, puis l'acide sulfurique et enfin la coupe. Dans ces conditions, on voit sous le microscope la succession des teintes indiquées plus haut.

Lorsqu'on fait le mélange d'acide sulfurique et de nitrate de potasse dans un verre de montre, il est difficile d'obtenir un bon résultat. L'acide sulfurique concentré attaque les tissus et la préparation, très altérée, ne peut plus alors être facilement transportée. Si l'on dilue l'acide sulfurique, la coloration ne se produit pas.

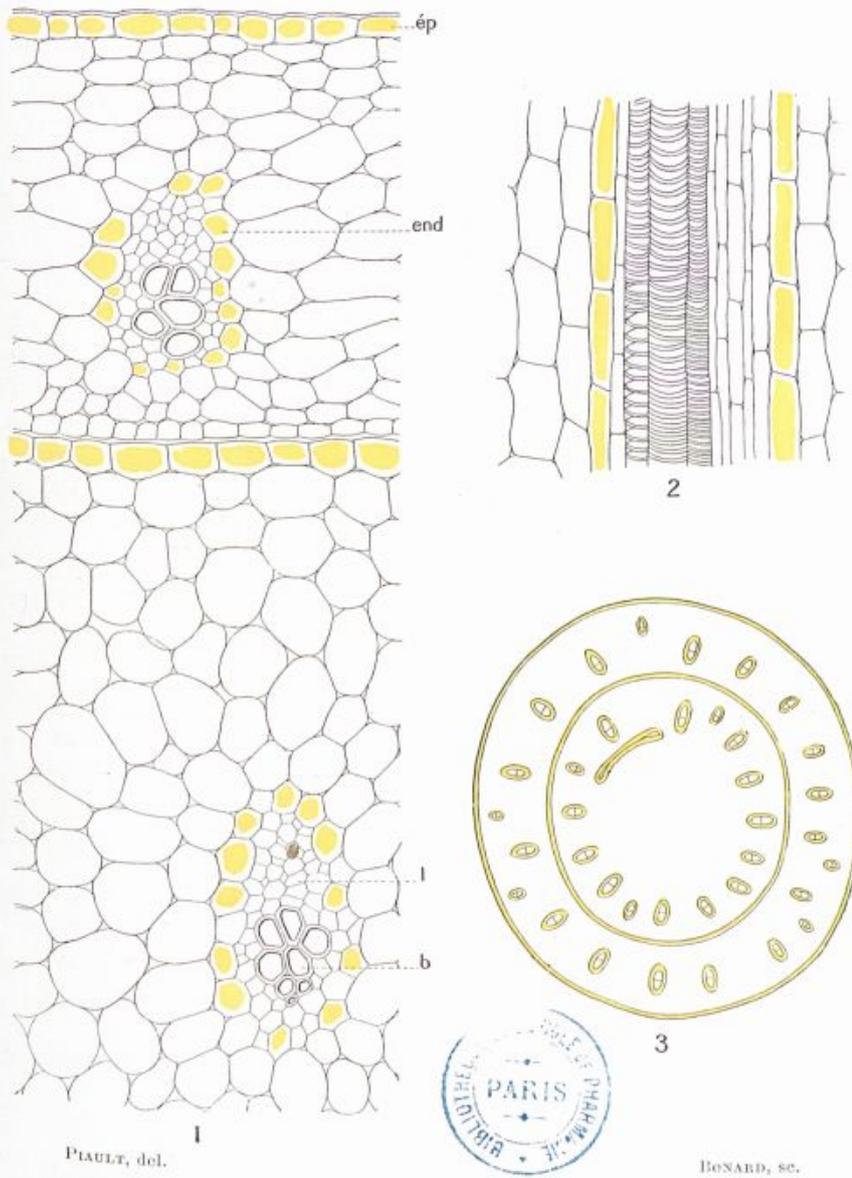
La coloration rouge que donne la potasse après l'action de l'acide sulfurique additionné d'acide nitrique, est difficile à obtenir. En faisant pénétrer la solution de potasse sous la lamelle, on n'obtient généralement aucun résultat; d'après ERRERA, cet insuccès provient probablement de ce que la colchicine a eu le temps de se répandre par diffusion dans toute la préparation, sous l'influence des acides employés.

On peut réussir plus facilement en jetant la coupe dans la potasse, dès que la teinte violette tend à pâlir. On voit souvent cette teinte passer au rouge vif. Une coloration semblable peut apparaître aussi en des endroits où il n'y a pas d'alcaloïdes: cette réaction est due aux tanins qui donnent, avec la potasse, des produits d'oxydation rouges. Cette méthode n'est donc pas à recommander à cause de son peu de netteté et de la confusion qu'elle peut amener.

3° *Localisation par l'iodure de potassium iodé.* — Si l'on suit, sous le microscope, l'action de l'iodure de potassium iodé<sup>(1)</sup> dilué de moitié,

1 La formule employée est la suivante :

Iode. . . . .	1	gramme.
Iodure de potassium. . . . .	3	—
Eau distillée. . . . .	100	—



*Colchicum autumnale* L.; 1, coupe transversale du bulbe; 2, coupe longitudinale d'un faisceau libéro-ligneux; 3, coupe schématique du bulbe.



sur une section transversale, on remarque une coloration bleue intense de toute la préparation; puis on voit se produire, dans les cellules à colchicine, une coloration jaune, qui passe à l'orange, au rouge acajou, sans qu'aucun précipité semble se former. Au bout de quatre à cinq minutes, la coloration diminue et, dans chaque cellule, on voit alors un précipité brun kermès. Si le précipité peut se former sans addition d'acide chlorhydrique, contrairement à ce que l'on obtient *in vitro*, cela tient très probablement à ce que le suc cellulaire du colchique est acide. La formation du précipité est d'ailleurs beaucoup plus rapide si on acidifie la solution d'iodure de potassium iodé par l'acide chlorhydrique ou l'acide sulfurique.

La chaleur accélère également la précipitation de la colchicine.

Avec la solution concentrée d'iodure de potassium iodé, la formation du précipité est également rapide, mais moins instructive qu'en opérant avec une solution diluée.

La même réaction, faite sur des coupes privées de l'alcaloïde par un séjour d'une demi-heure dans l'alcool tartrique, est négative.

4° *Localisation par différents réactifs.* — L'iodure double de mercure et de potassium, employé seul, donne une coloration jaune, peu marquée, dans les cellules à colchicine. En présence d'acide chlorhydrique, la réaction est un peu plus intense, mais dans toute la préparation se répand un précipité jaune de chrome, granuleux.

L'acide phosphomolybdique donne un précipité jaunâtre dans les cellules à colchicine. Cette réaction n'est pas à recommander.

Il en est de même des réactions que donnent le tanin, le perchlorure de fer, le réactif d'ERDMANN, etc.

Seules, les réactions à l'acide sulfurique, à l'acide sulfurique additionné d'acide nitrique ou de nitrate de potasse, à l'iodure de potassium iodé, donnent de bons résultats.

**Répartition de la Colchicine dans le *Colchicum autumnale* L.** — *Bulbe de l'année.* — La colchicine se trouve localisée dans les cellules épidermiques et dans les cellules qui entourent immédiatement les faisceaux libéro-ligneux, formant ainsi un anneau de cellules colorées en jaune. Sur une coupe très mince, quelques cellules seulement sont colorées au pourtour des faisceaux; sur une coupe un peu épaisse, on observe autour de chaque faisceau un anneau complet de cellules colorées. Sur une coupe longitudinale, chaque faisceau apparaît bordé de chaque côté par une rangée de cellules colorées (Pl. I).

Ces cellules sont allongées parallèlement au faisceau; elles sont plus longues et plus étroites que les cellules du parenchyme qui les entourent. Elles ne sont pas lignifiées; elles renferment un noyau colorable par le carmin de GRENACHER. C'est bien le contenu de ces cellules, et non la membrane, qui se colore, car des cellules déchirées, ayant par suite

perdu leur contenu, ne se colorent plus (ERRERA, MAISTRIAU, CLAUTRIAU).

Les cellules de cette gaine endodermique circumfasciculaire ne renferment pas d'amidon, tandis que les éléments des parenchymes voisins en contiennent beaucoup.

Le point végétatif du bulbe de l'année suivante, qui est placé à la base du bulbe de l'année, donne une coloration jaune intense.

LINDT (1) prétend avoir observé, dans les écailles du bulbe de colchique, des gouttelettes huileuses, qui se colorent en jaune par l'acide sulfurique. Il ne croit pas que ce soit de la colchicine, parce que ces gouttelettes se dissolvent dans l'éther de pétrole, et que l'on n'obtient plus de réaction. ERRERA et BARTH ne partagent pas son avis, et attribuent cette réaction à la colchicine, car ils font remarquer que cette dernière peut se dissoudre dans l'éther de pétrole, à la faveur de l'huile contenue dans la plante.

*Tige.* — La tige est riche en colchicine; elle s'y trouve dans l'épiderme et aussi dans l'endoderme des faisceaux conducteurs.

*Feuille.* — Dans la feuille, la réaction est masquée par la chlorophylle; toutefois, on constate que l'épiderme en renferme une assez grande quantité.

O. BARTH dit avoir trouvé de l'alcaloïde dans le liber des faisceaux des différents organes, au moyen de la précipitation par l'acide picrique, par un contact de huit jours des coupes avec la solution d'acide picrique. Cela est assez vraisemblable.

*Fruit, graine.* — Dans le fruit, la colchicine se localise dans l'épiderme de la capsule; dans les graines, l'albumen donne une réaction intense, montrant ainsi que la partie la plus active de la plante est la graine.

BARTH prétend n'avoir pas trouvé d'alcaloïde dans l'albumen des graines jeunes, et en faible quantité dans le même tissu des graines mûres. Pour lui, l'alcaloïde existerait surtout dans la troisième assise tégumentaire, constituée par des cellules cubiques à parois un peu épaisses.

*Bulbe de l'année précédente.* — Ce bulbe sert de réservoir nutritif au bulbe de l'année. Son épiderme ne donne qu'une réaction faible, et, autour des faisceaux, quelques rares cellules se colorent en jaune. Dans un vieux bulbe épuisé ne renfermant plus d'amidon, la coloration jaune est très faible et même, souvent, nulle.

Les bulbes secs, que l'on trouve dans le commerce, ne donnent qu'une réaction faible, et souvent diffuse. Ce résultat vient donc justifier la préférence donnée aux bulbes frais pour les préparations de colchique.

GIACOMO ALBO a étendu la recherche microchimique de la colchicine à d'autres espèces de *Colchicum*, et à un genre voisin : *Merendera*.

1. LINDT : *Loc. cit.*, 238.

Il a pu ainsi affirmer la présence de cet alcaloïde dans *C. latum* Stev., *C. variegatum* L., *C. Bisignani* Ten., *C. Capani* Guss., *C. veratrifolium*? *C. Bivonæ* Guss., *C. persicum* Baker, *C. neapolitanum* Ten., *C. montanum* L., *C. Bertolonii* Stev., *C. montanum* L. var. *angustifolium*, *C. autumnale* L. var. *flavo-purpureus*, et dans les feuilles de *Merendera caucasica* Bieb. et *M. sobolifera* Fisch.

ALBO (1) pense que la colchicine se trouve à l'état de solution dans les tubes criblés, mais il n'a pu le prouver par ses réactions microchimiques; il se base sur ce que, d'une section de *Colchicum*, il s'écoule un peu de sève incolore à réaction acide, qui donne une réaction intense avec l'acide sulfurique et l'acide chlorhydrique.

D'après cet auteur, les coupes faites et examinées immédiatement, donnent les réactions dans toutes les cellules; mais, en les lavant préalablement à l'eau, on constate que le liquide se localise dans les cellules bien déterminées que nous avons précédemment indiquées. Si, au contraire, après avoir sectionné la plante, on laisse s'écouler le liquide, et que l'on vienne à faire une nouvelle coupe, au même niveau, on constate que la préparation ne présente plus la réaction de la colchicine dans toutes les cellules, mais seulement dans l'épiderme et les cellules de l'endoderme.

Cette affirmation de la présence de la colchicine dans le liber aurait gagné à être prouvée microchimiquement. Il est fort probable, et BARTH l'a d'ailleurs indiqué, que la colchicine existe dans le liber, mais l'on s'explique mal que cet alcaloïde gagne l'épiderme, l'endoderme, sous l'action d'un traumatisme. La réaction de la colchicine dans toutes les cellules, observée par G. ALBO, ne proviendrait-elle pas d'une diffusion de cet alcaloïde sur toute la coupe lors de la section des cellules à colchicine, et particulièrement de celles du liber, qui sont allongées et ne peuvent garder leur contenu?

ALBO a également suivi la variation de l'alcaloïde pendant le développement de la plante; nous examinerons ses conclusions dans un autre chapitre sur le rôle de l'alcaloïde.

## 2. — Véératine.

Le principe actif des semences de Cévadille, *Sabadilla officinarum* Brandt (*Veratrum Sabadilla* Retz), a été isolé, en 1818, par MEISSNER. C'est ce produit que l'on désigne dans le commerce sous le nom de *Véératine*. C'est une poudre blanche, amorphe, fusible à 150°. Ce n'est pas une substance homogène, c'est un mélange d'au moins trois alcaloïdes bien définis qui sont : la *Véératine* cristallisée (*Cévadine*)  $C^{39}H^{40}AzO^7$ ; la *Véératridine* (*Véératine amorphe*)  $C^{37}H^{35}AzO^{11}$ ; la *Sabadiline* (*Cévadil-*

1. GIACOMO ALBO : *Loc. cit.*, 230.

line)  $C^{24}H^{32}AzO^8$  ou  $C^{24}H^{27}AzO^7$  auxquels il faut ajouter deux bases isolées par MERCK : la *Sabadine*  $C^{30}H^{51}AzO^6$ , et la *Sabadinine*  $C^{37}H^{48}AzO^8$ . Ces alcaloïdes seraient combinés dans la plante aux *acides cévadique (acide tiglique)* et *vératrique* (PELLETIER et CAVENTOU).

La *Vératrine cristallisée*, désignée par VRIGHT et LUFF sous le nom de *Cévadine*, se présente sous l'aspect de prismes fusibles à 205°, insolubles dans l'eau chaude, peu solubles dans l'éther, très solubles dans l'alcool.

La *Vératridine*, isolée par SCHMIDT et KOPPEN, est amorphe, fusible à 180°, assez soluble dans l'eau.

La *Sabadilline*, retirée par COUERBE de la vératrine du commerce, est encore peu connue; COUERBE prétend qu'elle cristallise, dans le benzène, en aiguilles facilement solubles dans l'eau et l'alcool, tandis que VRIGHT et LUFF affirment n'avoir pu l'obtenir à l'état cristallisé. La formule admise par COUERBE est  $C^{31}H^{37}AzO^7$ ; celle de VRIGHT et LUFF,  $C^{24}H^{32}AzO^8$ .

**Caractères microchimiques.** — L'action des divers réactifs des alcaloïdes a été essayée sur la vératrine commerciale, c'est-à-dire sur le mélange des alcaloïdes, par HERMANN BARTH<sup>(1)</sup>, qui, de plus, a étudié la localisation de la vératrine dans les graines de *Sabadilla officinarum* Brandt:

- 1° L'iodure de potassium iodé : précipité brun, qui cristallise à la longue;
- 2° L'iodure de potassium et de bismuth : précipité brun, semblable au précédent;
- 3° Le chloroiodure de zinc : précipité rouge brun, amorphe;
- 4° L'iodure de potassium et de mercure : précipité blanc volumineux;
- 5° L'acide phosphotungstique ou acide phosphomolybdique : précipité volumineux, blanc jaunâtre, amorphe, devenant vert, puis bleuâtre;
- 6° L'acide picrique : précipité jaune;
- 7° Le platino-cyanure de potassium : précipité blanc, amorphe, se formant rapidement;
- 8° Le chlorure d'or : précipité blanc jaunâtre, amorphe, se réunissant en sphères;
- 9° Le chlorure de mercure : précipité blanc;
- 10° Le bichromate de potassium : précipité jaune, cristallin, soluble dans un excès d'eau;
- 11° Le sulfocyanate de potassium : précipité blanc, amorphe, devenant rouge, soluble dans un excès d'eau;
- 12° L'acide sulfurique et molybdate d'ammonium : précipité blanc, devenant bleuâtre;

1. H. BARTH : Studien über den mikrochem. Nachweis von Alkaloiden in Arzneidrogen, *Arch. d. Pharm.*, **236**, 354-367, 1898; *Dissert.*, Zurich, 33-36, 1898.

13° L'acide sulfurique concentré : coloration jaune, devenant orange, puis rouge intense;

14° L'acide azotique concentré : coloration jaune; en ajoutant beaucoup d'eau, on obtient des cristaux de vératrine;

15° L'acide chlorhydrique concentré : donne, avec la cévadine, une coloration violet rouge;

16° L'acide sulfovanadique : donne une coloration violet rouge;

17° L'acide sulfosélénique : solution brune, devenant rouge après une demi-heure;

18° L'acide sulfocérique : solution brune, devenant rouge;

19° Les chlorure d'or, ferrocyanure de potassium, ferricyanure de potassium : pas de précipité.

**Méthodes de localisation.** — C'est l'iodure de potassium iodé qui donnerait les meilleurs résultats; on pourrait également employer les autres iodures doubles.

Avec l'iodure double de mercure et de potassium, on a un précipité abondant dans les cellules du tégument de la graine de cévadille, mais on ne peut voir de précipité dans les cellules de l'albumen, à cause de l'aleurone et de la matière grasse. Si on lave la préparation avec de l'eau et que l'on ajoute de l'acide sulfurique dilué (eau : 2 p.; acide : 1 p.), on obtient, après vingt-quatre heures, des cristaux rouges quadrangulaires dans les cellules, mais on n'en trouve pas dans les téguments. L'hydrogène sulfuré produit, dans les mêmes cellules, un précipité gris noirâtre. (Nous n'avons pu refaire ces réactions avec les matériaux que nous avons à notre disposition.)

L'acide chlorhydrique concentré colore l'intérieur des cellules en rouge; l'enveloppe des semences reste brune.

L'acide sulfovanadique donne une coloration brune, puis rouge, puis violette, dans l'intérieur des cellules de l'endosperme.

L'acide sulfosélénique donne une coloration brune, qui devient rouge après une demi-heure.

Toutes ces réactions ne se produisent plus dans les coupes privées d'alcaloïde par macération dans l'alcool tartrique.

**Répartition de l'alcaloïde dans les semences de Cévadille.** — L'alcaloïde se trouve dans l'albumen et les cotylédons.

Il n'y en a pas dans le tégument de la graine. On obtient bien un précipité par l'iodure de potassium iodé ou par l'iodure de mercure et de potassium, mais lorsqu'on lave les coupes à l'eau et que l'on ajoute de l'acide sulfurique, il ne s'y produit pas de cristaux rouges comme dans l'albumen et les cotylédons. Peut-être y a-t-il là un alcaloïde différent de la vératrine? (BARTH).

Nous avons répété ces méthodes de localisation sur la graine de cévadille. On peut constater que l'acide sulfurique concentré donne une colo-

ration rouge intense dans les cellules de l'albumen, et cela dans le même temps que quelques cristaux de vératrine mettent à se colorer par l'acide sulfurique concentré.

L'acide chlorhydrique concentré donne une légère coloration rose.

Mais nous préférons employer les *acides sulfovanadique, sulfosélénique* et surtout l'*acide sulfocérique*, préparé avec de l'acide sulfurique, répondant à la formule  $SO^*H^+ + H^*O$ . Ce dernier réactif colore, en rose faible, la vératrine *in vitro*. Dans la coupe de cévadille, on obtient une coloration rose, très belle, dans l'albumen et l'embryon, surtout au centre même de l'albumen. La réaction met quinze minutes environ pour se produire. Les coupes, préalablement traitées par l'alcool tartrique, ne donnent plus la réaction.

Nous ne pouvons guère recommander l'*iodure de potassium iodé*, parce qu'après action de l'alcool tartrique, l'aleurone, les matières grasses, donnent encore dans l'albumen une coloration jaune, qui gêne l'examen des coupes.

Enfin, il nous a été impossible de voir si les assises internes du tégument renferment de l'alcaloïde, parce que, dans nos échantillons, ces téguments étaient tellement colorés et aplatis qu'il fut impossible d'y rien distinguer. Dans l'assise externe, l'iodure de potassium iodé donne un précipité jaunâtre, qui ne se produit plus après action de l'alcool tartrique.

**Répartition de la Vératrine dans le *Veratrum album* L.** — Avant H. BARTH, BORSCHOW (\*) avait étudié la localisation de la vératrine dans la racine de *Veratrum album* L., en se servant d'acide sulfurique légèrement dilué.

Nous avons répété la localisation de la vératrine dans le *Veratrum album* L. On peut employer les réactifs iodés; l'*iodure de potassium iodé* donne un précipité dont l'examen est rendu difficile par la présence d'une grande quantité d'amidon. Il faut donc faire des coupes très minces, ou employer le *réactif de DRAGENDORFF*, qui ne présente pas le même inconvénient.

*Racine. Rhizome.* — L'acide sulfurique, additionné de sulfate de cérium ou d'acide sélénieux, colore tout le parenchyme cortical en rose, et plus spécialement la partie externe; de sorte que, malgré l'impossibilité de distinguer les cellules qui donnent la réaction, on peut affirmer que tout l'alcaloïde se trouve surtout dans les parties externes de l'écorce, à l'exclusion du cylindre central, qui ne donne aucune coloration. Nous ne croyons pas qu'il existe de l'alcaloïde dans l'assise externe; la coloration rouge sale que l'on y voit doit plutôt être attribuée aux matières subéreuses qui imprègnent les membranes. C'est une localisation par région, plutôt qu'une localisation cellulaire (fig. 1).

*Écailles foliaires.* — Dans les écailles foliaires, l'alcaloïde est, au con-

traire, situé dans les cellules épidermiques et, principalement, dans l'épiderme externe, mais dans le suc cellulaire et non dans la membrane, comme on l'a prétendu. L'iodure de potassium iodé donne un précipité très net dans ces éléments, qui ne se produit pas dans les coupes traitées par

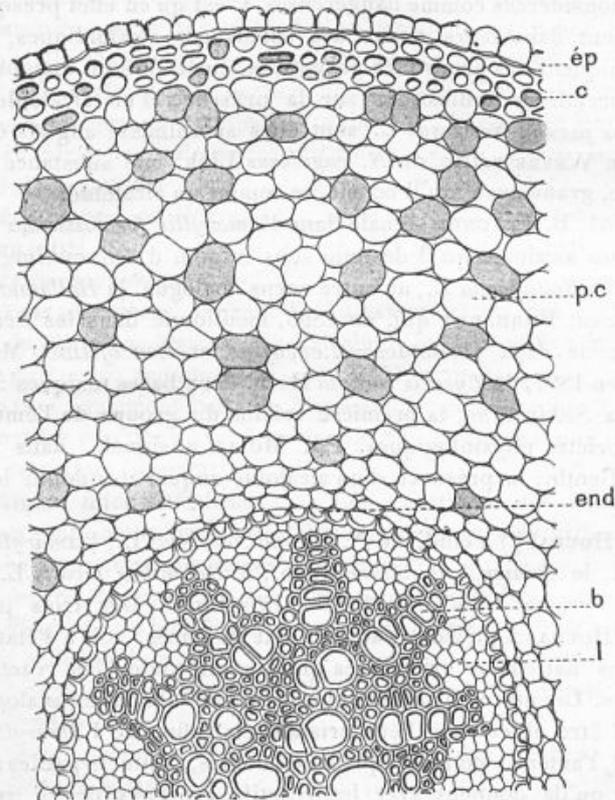


FIG. 1. — Répartition de la Vératrine dans la racine de *Veratrum album* L.

l'acide tartrique ; de plus, l'acide sulfocérique colore en rouge les deux zones épidermiques.

Ces résultats concordent en partie avec ceux de BORSCHOW (1), et n'en diffèrent que parce que ce dernier savant prétend avoir trouvé la réaction dans l'assise subéreuse de la racine et dans les membranes cellulaires épidermiques.

1. BORSCHOW : Beiträge zur Histochemie der Pflanzen, *Bot. Zeit.*, 32, 38, 1874

## AMARYLLIDACÉES

Les plantes appartenant à la famille des Amaryllidacées sont généralement considérées comme dangereuses. C'est qu'en effet presque toutes renferment dans leurs tissus des substances alcaloïdiques, qui leur communiquent des propriétés purgatives, émétiques ou toxiques.

Les premières indications sur la présence d'un alcaloïde dans le *Narcissus pseudo-Narcissus* L. sont dues au chimiste anglais GERRARD. Puis, DE WÈVRE retire du *N. rugulosus* Link. une substance blanche, amorphe, granuleuse, qu'il considère comme un alcaloïde.

En 1881, B. FRAGNER signale dans l'*Amaryllis formosissima* L. l'existence d'un alcaloïde qu'il désigne sous le nom d'*Amarylline*, et, dans l'*Amaryllis Belladonna* L., un autre corps analogue, la *Bellamarine*.

Puis c'est EHRHARDT qui, en 1893, mentionne dans les *Leucoium* la présence de deux alcaloïdes : *Leucojine* et *Leucojine*. MORISHIMA extrait, en 1897, du *Lycoris radiata* Herb. deux bases toxiques : la *Lycorine* et la *Sekiranine*, la première voisine du groupe de l'émétine par ses propriétés physiologiques. PH. MOLLE a signalé, dans le *Clivia miniata* Benth., la présence d'un alcaloïde auquel il a donné le nom de *Cliviine*.

Enfin HOUDAS<sup>(1)</sup> a étudié le *N. pseudo-Narcissus* L., l'*Amaryllis Belladonna* L., le *Crinum longifolium* Roxb., le *Galanthus nivalis* L., le *Pancreatium illyricum* L. et le *Clivia nobilis* Lindl. Des trois premières plantes, HOUDAS a pu isoler, soit à l'état de bases, soit à l'état de sels, des corps nettement cristallisés présentant toutes les réactions des alcaloïdes. Les autres plantes renferment des substances analogues, qui n'ont pu être obtenues à l'état cristallisé. Enfin, de l'*Amaryllis Belladonna* L., l'auteur a pu isoler quatre alcaloïdes, distincts par les réactions colorées qu'ils donnent avec les réactifs généraux de ce groupe de corps.

En résumé, nous connaissons très peu de chose de ces divers alcaloïdes. A part les résultats de HOUDAS, que l'on serait heureux de connaître plus amplement, on peut dire qu'on a caractérisé des alcaloïdes dans la plupart des Amaryllidacées, mais que nos connaissances sur la composition de ces corps sont nulles ou à peu près.

1. HOUDAS in COMOTTI : Recherches sur la localisation des alcaloïdes des Amaryllidacées. *Th. Doct. Un. pharm.*, Paris, 18, 1910.

1. — Alcaloïdes des *Narcissus*.

L'existence d'un alcaloïde dans le *Narcissus pseudo-Narcissus* L. a été signalée en 1877 par GERRARD. Ce composé est encore très peu connu. ERRERA, MAISTRIAU, CLAUTRIAU, sans connaître le travail de GERRARD, étaient arrivés, grâce aux méthodes microchimiques, à une conclusion identique. Ils étudièrent les réactions de cet alcaloïde sur le suc qui apparaît à la surface d'une section de la hampe florale. Ce suc aqueux renferme beaucoup de raphides d'oxalate de chaux, une matière gommeuse et plusieurs substances dissoutes, entre autres une grande quantité d'alcaloïde.

La même année, DE WÈVRE<sup>(1)</sup> isola du *Narcissus rugulosus* Link. une petite quantité de cet alcaloïde, qui lui permit d'étudier quelques réactions microchimiques.

Dans ces dernières années, T. YAMANCHI retira des bulbes et des feuilles du *Narcissus Tazetta* L. un alcaloïde qu'il identifia à la *Lycorine*, extraite du *Lycoris radiata* Herb., par K. MORISHIMA.

HOUDAS a également isolé du *Narcissus pseudo-Narcissus* L. un alcaloïde dont les réactions avec les réactifs des alcaloïdes sont consignées dans le travail de COMOTTI.

**Réactions microchimiques.** — Les réactions des alcaloïdes des *Narcissus* sont nombreuses, mais bien peu peuvent être utilisées pour la recherche microchimique de ces substances.

1° L'iodure de potassium iodé : précipité rouge brun, abondant, qui pâlit et disparaît au bout d'une heure, et qui ne réapparaît plus par une nouvelle addition de réactif;

2° L'iodure double de mercure et de potassium : précipité blanc jaunâtre abondant;

3° L'acide phosphomolybdique : précipité blanc ocracé granuleux, soluble dans la potasse;

4° L'acide picrique : précipité jaune, granuleux;

5° Le tanin : précipité blanc, finement granuleux, abondant;

6° Le bichlorure de mercure : précipité blanc, finement granuleux, peu abondant;

7° L'acide sulfurique : coloration un peu verdâtre, passant au rouge cerise par addition d'une goutte de formol (HOUDAS);

8° L'acide sulfurique et acide azotique : coloration jaune;

9° L'acide sulfurique et molybdate de soude : teinte vert sale (HOUDAS);

10° L'acide sulfurique et sélénite de soude : coloration jaune passant au brun (HOUDAS);

1. COMOTTI : *Loc. cit.*, 19.

11° L'acide sulfurique et bichromate de potasse : coloration bleu verdâtre (HOUDAS);

12° Le ferricyanure de potassium et perchlorure de fer : coloration et précipité de bleu de Prusse;

13° Le sulfocyanate de potassium et sulfate de zinc : précipité blanc rosé sale, peu abondant;

14° L'acide sulfurique et acide nitrique : coloration violet rosé fugitive, puis jaune fauve, après quoi le liquide pâlit de plus en plus. L'addition de potasse jusqu'à réaction franchement alcaline fait alors passer au jaune orangé (ERRERA). Cette réaction rappelle celle de la colchicine.

**Méthodes de localisation.** — Les essais qui ont permis à ERRERA, MAISTRIAU, CLAUTRIAU (1) de localiser cet alcaloïde dans le *Narcissus rugulosus* sont les suivants :

1° L'iodure de potassium iodé donne dans les cellules un précipité rouge brun abondant, qui disparaît au bout de quelque temps si la préparation reste dans le réactif, mais qui persiste si on laisse évaporer la solution iodo-iodurée. Ce précipité est constitué par des granules très ténus, agités d'un vif mouvement brownien; il est soluble dans l'hyposulfite de soude (ERRERA);

2° L'acide sulfurique concentré agissant sur une coupe récente donne, dans les cellules à alcaloïde, une magnifique coloration vert bleu, qui pâlit à la longue et devient jaune verdâtre. L'addition de quelques cristaux de nitrate de potasse fait passer rapidement la couleur du vert au brun (ERRERA);

3° L'iodure de mercure et de potassium donne un précipité blanchâtre peu apparent;

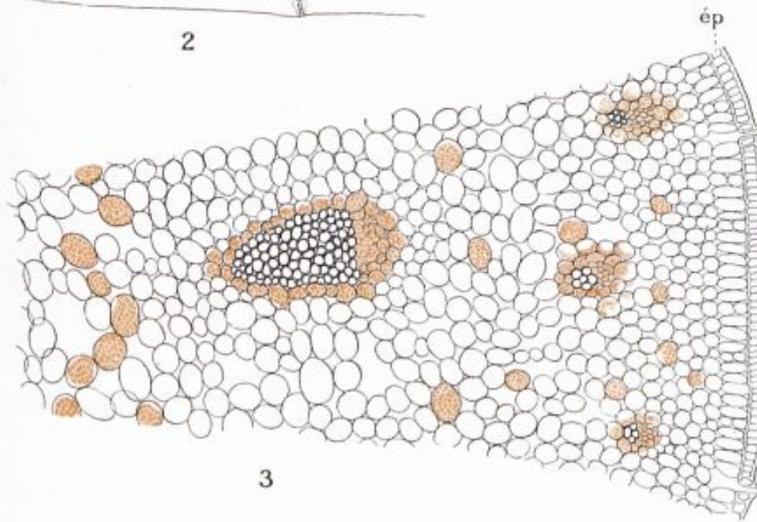
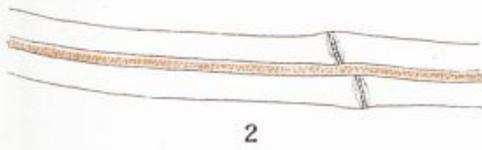
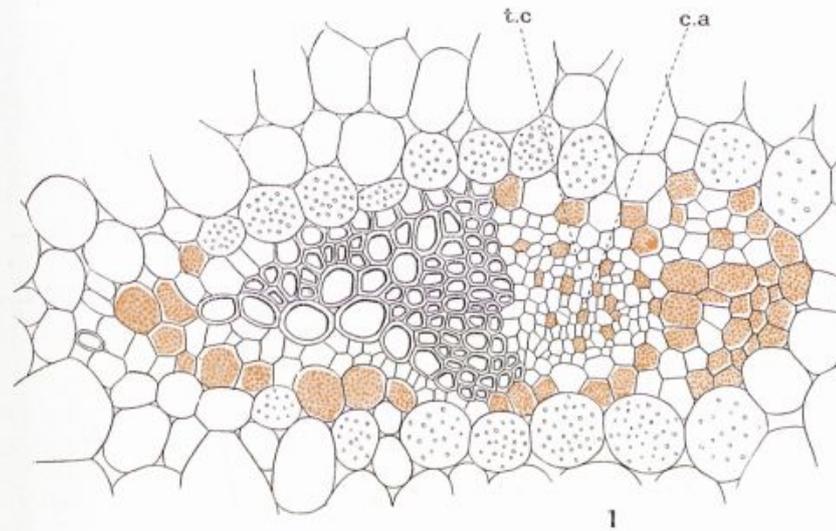
4° Le tanin donne un précipité finement granuleux;

5° L'acide phosphomolybdique donne un précipité blanc granuleux, soluble dans la potasse caustique.

**Répartition de l'alcaloïde dans le *Narcissus rugulosus* Link.** — Se servant des deux premières réactions, les auteurs ont pu observer la répartition de ce composé dans la racine et la hampe florifère.

**Racine.** — L'alcaloïde s'observe : dans les assises les plus externes; dans quelques cellules parenchymateuses disséminées dans l'écorce; dans les longues cellules à raphides qui existent dans l'écorce; dans l'endoderme, qui est privé de matière amylacée, et dans quelques cellules du parenchyme cortical avoisinant qui, elles, au contraire, sont gorgées d'amidon; dans les cellules annexes des tubes criblés et les

1. ERRERA, MAISTRIAU, CLAUTRIAU : Premières recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes dans les plantes. *Bull. Soc. belge Microsc.*, 12, 1885-86, p. 19-24 du tiré à part, et *Recueil Inst. bot.* ERRERA. 2, 169-175, 1906.



D'après ERBERA, MAISTRIAU et CLAUTRIAU.

BONARD, SC.

*Narcissus rugulosus* Link.; faisceau libéro-ligneux de la hampe florale:  
2, tubes criblés et cellule annexe; 3, coupe transversale de la hampe florale.



cellules libériennes qui séparent le liber du bois. Il fait défaut dans les régions ligneuses du faisceau, dans les tubes criblés et dans le cambium, le péricycle.

*Bulbe.* — Dans le bulbe, l'alcaloïde est abondant : dans les cellules épidermiques, et principalement dans l'épiderme externe; dans les cellules à raphides; les cellules à amidon qui les entourent en sont dépourvues. On le trouve encore dans certaines cellules parenchymateuses de la partie profonde des écailles, qui sont généralement privées d'amidon, et dans quelques cellules parenchymateuses des faisceaux libéro-ligneux.

*Feuille.* — Dans la feuille, la localisation est la même. Ce sont toujours les cellules à raphides, au voisinage des épidermes, qui sont les plus alcaloïdiques, puis viennent les cellules épidermiques.

*Hampe florale.* — Dans la hampe florale, la précipitation par l'iodure de potassium iodé se fait surtout : dans l'épiderme, et dans quelques cellules du parenchyme cortical; dans les cellules qui entourent les faisceaux (endoderme et cellules du parenchyme avoisinant); dans les cellules annexes qui accompagnent les tubes criblés (Pl. II).

*Les éléments qui renferment le plus d'alcaloïde sont les cellules à raphides.* La précipitation de l'alcaloïde dans ces éléments est très difficile, parce que ces cellules, très comprimées par le parenchyme environnant, expulsent facilement leur contenu à la moindre entaille. Leurs parois transversales sont très peu résistantes, de sorte que toute une file de cellules se vide sur plusieurs centimètres de longueur, déverse son contenu à la surface de la section, et vient par suite entraver l'observation. De plus, les raphides d'oxalate de chaux, agissant comme de véritables aiguilles, contribuent largement à la déchirure des parois transversales. Pour mieux démontrer la présence d'alcaloïde dans ces cellules, on fait, dans une plante intacte (bulbe compris), des coupes longitudinales, surtout dans la partie externe du bulbe, avec un rasoir baigné dans l'iodure de potassium iodé. Le contenu des cellules est ainsi coagulé avant de pouvoir s'écouler, et l'on voit, dans les cellules à raphides, un précipité rouge brun, très abondant. Autour du précipité, on distingue vaguement une masse gommeuse incolore qu'entoure la membrane cellulaire (Pl. III, 3).

L'alcaloïde manque dans les vaisseaux, les tubes criblés, les cellules de bordure des stomates, et aussi dans le parenchyme sous-épidermique qui contient de la chlorophylle.

*Organes floraux.* — A la base du périanthe, les cellules épidermiques ne fournissent, en général, qu'une réaction alcaloïdique peu marquée. Ce sont les cellules à raphides qui sont les plus riches en principe actif.

Dans l'ovaire, ce sont également les cellules de l'épiderme externe et les cellules à raphides qui sont le lieu d'élection de l'alcaloïde. Tou-

tefois, au voisinage des faisceaux, certaines cellules fournissent également les réactions alcaloïdiques. Tout le tissu de l'ovule est alcaloïdifique, mais la réaction est surtout intense dans les cellules épidermiques.

**Répartition de l'alcaloïde dans le genre *Narcissus*.** — Le *N. rugulosus* est l'espèce la plus riche en principe actif; après, viennent le *N. pseudo-Narcissus* L., le *N. incomparabilis* Mill., le *N. Tazetta* L., le *N. poeticus* L.; ce dernier ne semble même renfermer que très peu d'alcaloïde. Le *N. Jonquilla* L. et le *N. juncifolius* Reg., étudiés avec les précédents par R. COMOTTI<sup>(1)</sup>, sont également alcaloïdiques.

La lumière semble ne jouer aucun rôle dans la formation de ces composés, car des pieds de *Narcissus* croissant en plein air et mis pendant quinze jours sous une cloche noire, renfermaient encore une grande quantité d'alcaloïdes dans les tissus, alors que l'amidon avait déjà disparu.

## 2. — Alcaloïdes des *Clivia*.

Les *Clivia* renferment un alcaloïde qui a été isolé par PH. MOLLE<sup>(2)</sup>, en vue de recherches microchimiques. L'auteur lui attribue le nom de *Cliviine*<sup>(3)</sup>, mais il n'a donné aucun caractère de ce corps, qu'il n'a d'ailleurs pas cherché à obtenir à l'état pur. Il s'est contenté d'obtenir une solution alcaloïdique (après extraction par la méthode de STASS) sur laquelle il a essayé les différents réactifs des alcaloïdes.

**Réactions microchimiques.** — 1° L'iodure de potassium iodé donne immédiatement un précipité brun foncé, abondant et persistant;

2° L'iodure double de potassium et de mercure: un précipité jaune très pâle, abondant, adhérent, caséeux;

3° L'acide phosphomolybdique: un précipité jaune sale abondant, que l'ammoniaque colore en bleu;

4° Le tannin: un précipité blanc abondant;

5° Le chlorure d'or: un précipité gris jaunâtre abondant, se réduisant lentement à la température ordinaire, et rapidement par l'action de la chaleur.

6° La solution aqueuse concentrée d'acide picrique donne un précipité jaune, finement granuleux, qui se dissout par la chaleur et reparait par refroidissement;

7° L'acide sulfurique dilué (répondant approximativement à la for-

1. COMOTTI: *Loc. cit.*, 27.

2. PH. MOLLE: Un alcaloïde dans le *Clivia miniata* Benth. *Ann. Soc. roy. d. Sc. méd. et nat. de Bruxelles*, 11, fas. 3, 1902. *Recueil Inst. bot.* ERRERA, 6, 57-71, 1906.

3. Le nom de *Cliviine* est peut-être prématuré, car il se peut que l'on soit en présence d'un mélange d'alcaloïdes. Il serait désirable que l'on puisse isoler ce corps à l'état de pureté pour le comparer aux autres alcaloïdes déjà isolés des Amaryllidacées.

mule  $\text{SO}^4\text{H}^3 + \text{H}^3\text{O}$ ), additionné d'une petite quantité de vanadate d'ammonium, donne une coloration verte, qui va en s'accroissant lorsqu'on ajoute de nouvelles quantités de vanadate;

8° Dans les mêmes conditions de dilution, l'acide sulfurique additionné de bichromate de potassium, donne une belle coloration bleu verdâtre;

9° La cliviine réduit le mélange chlorure ferrique + ferricyanure de potassium, avec formation de bleu de Prusse.

**Méthodes de localisation.** — Parmi les réactifs qui permettent de localiser la cliviine dans les tissus, il convient de citer en premier lieu l'iodure de potassium iodé. C'est surtout cette méthode qui a servi à MOLLE pour étudier la répartition de l'alcaloïde dans le *Clivia miniata* Benth., et à COMOTTI (1), pour les mêmes recherches dans le *Clivia nobilis* Lindl.

MOLLE contrôle les résultats obtenus par le réactif iodo-ioduré au moyen des réactions colorées suivantes :

On dépose, sur une lame, des coupes de *Clivia*, et l'on fait arriver sous la lamelle un mélange de chlorure ferrique (additionné d'un peu d'acide nitrique) et de ferricyanure de potassium : les éléments alcaloïdiques se dessinent rapidement en bleu. Mais il faut suivre, sous le microscope, le progrès de la réaction, car, après peu de temps, les cellules laissent écouler leur suc et la coloration bleue envahit toute la préparation.

L'acide sulfurique additionné de vanadate d'ammonium ou de bichromate de potassium permet de s'assurer de la présence de la cliviine dans une coupe par la coloration verte ou bleue que prend la préparation, mais il est impossible de reconnaître les éléments qui la contiennent.

En traitant successivement une même coupe par l'acide phosphomolybdique et par l'ammoniaque, on colore en bleu les cellules qui renferment une forte proportion d'alcaloïde.

Le chlorure d'or en solution à 1 p. 100 donne, d'après MOLLE, de bons résultats, surtout si l'on prend la précaution de réduire le précipité obtenu par ce réactif au moyen du formol, en suivant les indications de STRASBURGER (2). On peut obtenir de cette façon des préparations durables. Toutes ces réactions sont imputables à la présence de l'alcaloïde (ou des alcaloïdes), car, après le traitement des coupes par l'alcool tartrique, on n'obtient plus ces réactions.

**Répartition de l'alcaloïde dans le *Clivia miniata* Benth. (?) et le *Clivia nobilis* Lindl. — Racine.** — Dans le *Clivia miniata*, l'alcaloïde se trouverait, d'après MOLLE, uniquement dans les cellules à raphides. On examinera facilement cette localisation sur des coupes longitudinales pas trop fines et bien orientées.

1. COMOTTI : *Loc. cit.*, 43.

2. STRASBURGER : *Das bot. Practicum*, 3 Ausg., 99, 1897.

Chez certaines racines, on observe également la cliviine dans des cellules du parenchyme cortical, voisines du point végétatif; mais chez d'autres, où celui-ci paraissait moins actif, MOLLE en a vu seulement dans les cellules à raphides qui, suivant l'allure générale des assises cellulaires, s'avancent en ligne courbe vers le sommet.

Il en a également observé dans les cellules compagnes des tubes criblés. Exceptionnellement, on en trouve dans d'autres éléments, mais cela s'explique souvent par le voisinage d'un point végétatif ou d'une blessure.

L'alcaloïde semble être plus abondant à l'extrémité de la racine et le verdissement de cet organe ne paraît avoir aucune influence, ni sur le siège, ni sur la quantité de cliviine que l'on y observe (MOLLE).

Dans le *Clivia nobilis* Lindl., COMOTTI a observé également l'alcaloïde dans les cellules à raphides, situées surtout dans la région extérieure du parenchyme, au voisinage du voile. Mais c'est dans les cellules endodermiques que l'on observe la réaction alcaloïdique la plus nette. Dans le cylindre central, l'alcaloïde se trouve également répandu dans les éléments parenchymateux des faisceaux. L'auteur n'a pu déterminer si ce produit se trouvait dans les tubes criblés ou dans les cellules compagnes (Pl. III, 4).

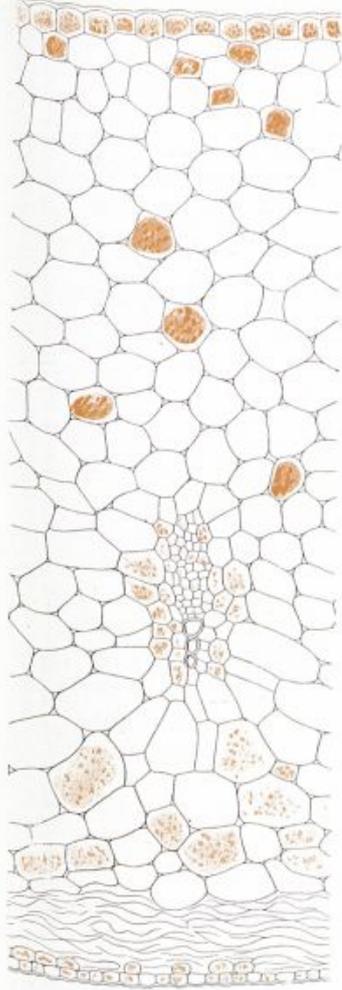
La racine du *Clivia nobilis* Lindl. semble donc être plus riche en alcaloïde celle du *Clivia miniata* Benth.

*Rhizome.* — Dans le *Clivia miniata* Benth. (?), l'alcaloïde serait surtout localisé dans les cellules à raphides, et principalement dans celles de la périphérie. On en trouve également dans les éléments parenchymateux du liber et dans les cellules compagnes. Lors de la formation d'une racine adventive, non seulement le méristème, mais les éléments voisins accumulent une certaine quantité d'alcaloïde: cette accumulation n'est que passagère, car tous ces tissus reviennent bientôt à leur état normal.

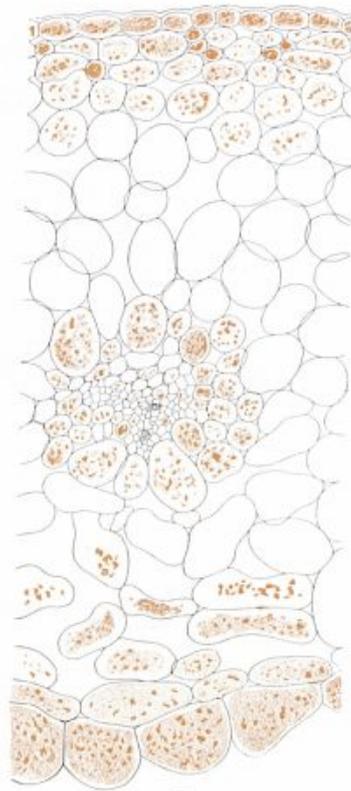
Dans le *Clivia nobilis* Lindl., la localisation est identique, mais on trouve, en plus, des alcaloïdes dans les cellules épidermiques et dans beaucoup de cellules ordinaires du parenchyme cortical, principalement dans la région périphérique, soit au voisinage de l'épiderme, si ce dernier n'a pas été exfolié, soit dans le phelloderme.

*Feuille.* — La localisation est identique pour le *Clivia miniata* Benth. et le *Clivia nobilis* Lindl. Les cellules à raphides, situées principalement au voisinage des épidermes, sont le siège principal de l'alcaloïde, mais ce dernier existe également au pourtour des faisceaux libéro-ligneux, et principalement dans l'endoderme, ainsi que dans le parenchyme libérien des faisceaux (cellules-compagnes, MOLLE). On en trouve rarement dans l'épiderme.

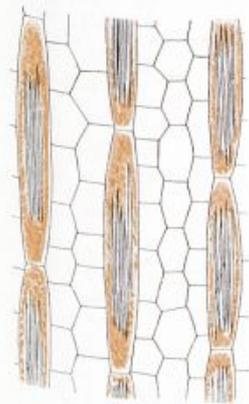
*Organes floraux.* — Dans le pédoncule floral, le périanthe, l'ovaire, le filet des étamines, l'alcaloïde se trouve, comme pour la feuille, dans



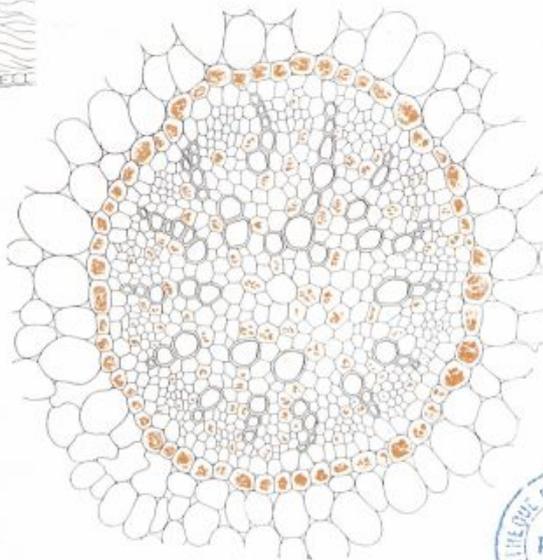
1



2



3



4

R. Comotti, del.

BONARD, SC.



*Eucharis amazonica* Hort-Linden : 1, coupe transversale du bulbe. *Galanthus nivalis* L. : 2, paroi ovarienne. *Narcissus pseudo-Narcissus* L. : 3, cellules à raphides. *Clivia nobilis* Lindl. : 4, cylindre central de la racine.



les cellules à raphides, au pourtour des faisceaux libéro-ligneux, dans le parenchyme libérien, et aussi, contrairement à ce que l'on trouve pour la feuille, dans les cellules épidermiques. Dans les styles, étamines, pétales âgés, l'alcaloïde a disparu ; on le rencontre dans tous les tissus de l'ovule, mais surtout dans le tégument externe, dans les cellules qui limitent intérieurement le sac embryonnaire, et dans le faisceau du funicule.

*Fruit et graine.* — Le péricarpe semble être totalement dépourvu d'alcaloïde. La graine, au contraire, offre une réaction intense, non seulement dans les cellules de l'albumen et le tissu de l'embryon, mais aussi dans le tégument séminal, réduit à une mince pellicule.

Les *Narcissus* et les *Clivia* se comportent donc différemment en ce qui concerne la localisation des alcaloïdes. Les épidermes, très alcaloïdiques chez les *Narcissus*, ne le sont qu'exceptionnellement chez les *Clivia*.

Toutefois, il faut retenir ce fait : lorsqu'on pratique une entaille dans un rhizome de *Clivia*, au bout de quelques jours, on peut observer la formation d'un méristème cicatriciel parallèlement à la blessure et, dans les cellules qui se recloisonnent, les réactifs signalent la présence d'une quantité notable d'alcaloïde, alors que les cellules voisines n'en possèdent pas encore. Le recloisonnement des cellules de *Clivia* serait donc accompagné de l'élaboration, dans ces mêmes cellules, d'une quantité décelable d'alcaloïde. C'est par un processus analogue que s'expliquerait la localisation de l'alcaloïde au voisinage des méristèmes (points végétatifs, formation de radicules).

### 3. — Alcaloïde du *Galanthus nivalis* L.

СОМОТТИ (1) a localisé l'alcaloïde du *G. nivalis*, par la méthode générale à l'iodure de potassium iodé. La répartition de ce principe est la suivante :

*Racine.* — Cette racine est très mince, et l'on n'a pu y localiser l'alcaloïde que dans les grandes cellules à raphides, qui sont d'ailleurs peu nombreuses dans le parenchyme cortical.

*Bulbe.* — Réaction très intense dans les cellules de l'épiderme externe de l'écaille et dans les cellules à raphides, nombreuses au voisinage de cet épiderme. L'alcaloïde existe également dans les éléments parenchymateux des faisceaux, et dans certaines cellules du parenchyme proprement dit de l'écaille.

*Feuille.* — L'alcaloïde se trouve dans les cellules de l'épiderme externe de l'écaille, dans les cellules à raphides, au pourtour des faisceaux libéro-ligneux, et dans la région libérienne de ces faisceaux.

1. R. СОМОТТИ : *Loc. cit.*, 36.

*Organes floraux.* — Dans le pédoncule floral, aussi bien que dans les diverses pièces du périanthe, l'alcaloïde est principalement abondant dans les cellules à raphides, qui sont très nombreuses au voisinage de l'épiderme et surtout de l'épiderme externe. Les cellules épidermiques présentent aussi, mais à un degré moindre, les réactions de l'alcaloïde.

Dans l'ovaire, on le trouve dans les cellules épidermiques et les cellules sous-jacentes, autour des faisceaux libéro-ligneux, et dans les cellules à raphides (Pl. III, 2).

Le contenu des cellules de l'ovule précipite abondamment avec l'iode de potassium iodé.

#### 4. — Alcaloïdes des *Leucoïum* L.

La *Leucojine* et la *Leucojitine* sont des alcaloïdes peu connus.

Le *Leucoïum æstivum* L. semble plus riche en alcaloïde que le *L. vernum* L., mais la localisation de l'alcaloïde est identique dans les deux espèces.

Elle a été faite par COMOTTI (1).

Cette répartition est la suivante :

*Bulbe* : cellules épidermiques, quelques cellules du parenchyme proprement dit de l'écaïlle, mais surtout les cellules à raphides.

*Racine* : réaction très nette dans les longues cellules à raphides, mais aussi dans l'endoderme et quelques cellules du cylindre central.

*Feuille* : dans les cellules épidermiques, où l'alcaloïde est peu abondant ; au pourtour des faisceaux, dans les éléments parenchymateux de ces faisceaux, et aussi dans les cellules à raphides.

*Ovaire et Ovule* : comme dans le *Galanthus nivalis* L.

#### 5. — Alcaloïdes de l'*Amaryllis Belladonna* L.

Nous avons dit que HOUDAS avait isolé 4 bases alcaloïdiques de l'*Amaryllis Belladonna* L., qu'il désigne par les lettres A. B. C. D. L'auteur ne donne ni la composition, ni les caractères physiques de ces bases. Il les différencie par les réactions colorées suivantes :

**Réactions microchimiques.** — *Alcaloïde A* : 1° *Acide sulfurique*. — Coloration rouge groseille ;

2° *L'acide sulfurique + acide azotique* : coloration rose passant de suite à la coloration verte, plus ou moins sale ;

3° *L'acide sulfurique + vanadate d'ammonium* : coloration rose carmin ;

4° *L'acide sulfurique + molybdate de soude* : coloration carmin très vif, passant au brun ;

1. R. COMOTTI : *Loc. cit.*, 37.

5° L'acide sulfurique + sélénite de soude : coloration carmin, passant au rouge sang, puis au brun ;

6° Le ferricyanure de potassium + perchlorure de fer : coloration brune passant au vert.

Cet alcaloïde est le plus répandu dans la plante.

Alcaloïde B : 1° Acide sulfurique : coloration rose violacé ;

2° L'acide sulfurique + acide azotique : coloration jaune verdâtre ;

3° L'acide sulfurique + vanadate d'ammonium : coloration rouge brun ;

4° L'acide sulfurique + molybdate de soude : coloration brune, passant au brun verdâtre ;

5° L'acide sulfurique + sélénite de soude : coloration brun rosé, faiblissant assez vite.

Alcaloïde C : 1° Acide sulfurique : coloration à peine jaunâtre.

2° L'acide sulfurique + acide azotique : coloration jaunâtre.

Alcaloïde D : 1° Acide sulfurique : pas de coloration d'abord, puis teinte nettement orangée ;

2° L'acide sulfurique + acide azotique : coloration jaunâtre ;

3° L'acide sulfurique + vanadate d'ammonium : coloration jaune, brunissant à la longue.

**Méthodes de localisation.** — La localisation des alcaloïdes dans l'*Amaryllis Belladonna* L. a été faite par COMOTTI<sup>(1)</sup> au moyen de l'iodure de potassium iodé.

**Répartition des alcaloïdes.** — *Bulbe.* — L'alcaloïde est abondant dans les cellules à raphides et les cellules épidermiques. On le trouve aussi dans les cellules du parenchyme cortical et dans le parenchyme des faisceaux libéro-ligneux.

*Racine.* — Cellules avoisinant le cylindre central, cellules à raphides ; assise périphérique contiguë à l'assise subéreuse.

*Feuille.* — Les cellules épidermiques donnent la réaction alcaloïdique, mais l'alcaloïde se rencontre surtout dans les cellules à raphides et les assises de cellules voisines des épidermes. Au pourtour des faisceaux libéro-ligneux, la précipitation par l'iodure de potassium iodé est assez marquée.

D'après COMOTTI, l'*Amaryllis Belladonna* L. serait l'Amaryllidée la plus riche en alcaloïdes parmi celles qu'il a étudiées.

#### 6. — Alcaloïdes de diverses Amaryllidacées.

COMOTTI ne s'est pas contenté de la localisation dans les *Narcissus*, le *Clivia nobilis* Lindl., l'*Amaryllis Belladonna* L., le *Galanthus nivalis* L. et les *Leucoium* ; il a également étudié les espèces suivantes : *Eucharis*

1. R. COMOTTI : *Loc. cit.*, 38.

*amazonica* Hort. Linden, *Hymenocallis adnata* W. Herb., *Pancreatum maritimum* L., *Pancreatum illyricum* L., *Sternbergia lutea* Ker. Gawl., *Hippeastrum vittatum* L., *Sprekelia formosissima* L., *Crinum americanum* L., *Hæmanthus punicus* L., et *Hæmanthus coccineus* L.

La localisation a été faite par la précipitation au moyen de l'iodure de potassium iodé, avec contrôle des résultats sur des coupes traitées par l'alcool tartrique.

Il ne nous paraît pas utile de répéter, pour chaque espèce, la répartition des alcaloïdes. Ce dernier se trouve toujours dans les cellules à raphides, et c'est là le fait le plus curieux de la localisation des alcaloïdes chez les Amaryllidées. Les cellules épidermiques sont, après les cellules à raphides, — surtout dans les écailles du bulbe, — les éléments les plus riches en alcaloïdes. Enfin, suivant la richesse des espèces ou des organes en alcaloïdes, ces derniers se trouvent également au voisinage des faisceaux libéro-ligneux, principalement dans l'endoderme, et dans le parenchyme libérien des faisceaux (Pl. III, 1).

Dans la racine suffisamment développée, l'alcaloïde, en plus des cellules à raphides, se trouve toujours très nettement localisé dans l'endoderme.

## CANNACÉES

### Alcaloïdes des *Canna*.

Dans les rhizomes des *Canna indica* L., *C. læta* Bouché, *C. limbata* Rosc, *C. spectabilis* Bouché, plongés depuis plusieurs jours dans l'alcool, ESSMANOFFSKY (1) a trouvé, dans les « canaux à mucilage » (!), des précipités particuliers, en forme de sphéro-cristaux, qui n'existent pas dans les rhizomes frais. Ils rappellent, par leur forme, l'inuline, mais ne sont pas aussi réguliers. Ces sphéro-cristaux sont peu transparents; ils ont de 0,06 à 0,10  $\mu$ . de diamètre. Ils ne présentent pas le phénomène de la croix noire.

Cette substance donnerait les réactions des alcaloïdes.

Les « canaux à mucilage » existent dans le parenchyme conjonctif des tiges et des rhizomes; ils sont défaut dans les feuilles, fruits et racines.

La recherche directe d'un alcaloïde dans les rhizomes de *Canna* ne nous a donné aucun résultat positif. La remarque d'ESSMANOFFSKY ne doit donc pas s'appliquer à une substance alcaloïdique.

1. JOSS ESSMANOFFSKY: Untersuchung der Saftgänge und der in ihnen vorkommenden eigenthümlichen Niederschläge bei *Canna*. in *Lust. bot. Jahresb.*, 7, 1 Abt., 10, 1879.

## ORCHIDACÉES

La présence d'un alcaloïde dans les Orchidacées des genres *Phalænopsis* et *Dendrobium* a été reconnue par DE WILDEMANN (\*), au moyen des réactions microchimiques. Dès la connaissance de ce résultat, CLAUTRIAU essaya d'isoler ce produit. Il parvint à obtenir des cristaux de sulfate d'alcaloïde, mais probablement en trop petite quantité pour donner les caractères et les propriétés de la base ou du sel, sauf les réactions de coloration.

En 1896, EM. DE DROOG (\*\*) essaya les réactions microchimiques sur 104 espèces d'Orchidées, appartenant à 78 genres. Il trouva des réactions positives dans 9 espèces se rapportant aux genres *Dendrobium*, *Eria*, *Catasetum*, *Phalænopsis*.

1. — Alcaloïde du *Dendrobium nobile* Lindl.

**Caractères microchimiques.** — Les réactions colorées que donne l'alcaloïde du *Dendrobium* sont les suivantes :

- 1° L'iodure de potassium iodé, additionné de carbonate d'ammonium : précipité brun kermès ;
- 2° L'iodure double de mercure et de potassium : précipité blanc jaunâtre ;
- 3° L'acide phosphomolybdique : précipité blanc jaunâtre ; une goutte d'acide azotique rend la réaction plus sensible ;
- 4° L'iodure double de cadmium et de potassium, l'iodure double de bismuth et de potassium : le premier, précipité légèrement jaunâtre ; le second, précipité rouge orangé ;
- 5° L'acide picrique, chlorure d'or : précipités jaunâtres ;
- 6° Le réactif de FRÖHDE : coloration verte, intense, peu persistante ;
- 7° L'acide sulfurique, en très faible quantité et à une légère chaleur : coloration rose violacée.

Les réactifs suivants ne donnent pas de précipité : tanin, chlorure de platine, chlorure de palladium, chlorure d'iridium, bichromate de potasse, bichlorure de mercure, réactif d'ERDMANN et solutions sulfuriques d'acides

1. E. DE WILDEMANN : Présence et localisation d'un alcaloïde dans quelques Orchidées. *Bull. Soc. belge de Microsc.*, **18**, 101-112, 1892. *Recueil Inst. bot. ERRERA*, **2**, 337-346, 1906.

2. EM. DE DROOG : Contribution à l'étude de la localisation microchimique des alcaloïdes dans la famille des Orchidacées. *Mémoires couronnés et autres Mémoires publiés par l'Acad. roy. de Belgique*, **45**, 1896. *Recueil Inst. bot. ERRERA*, **2**, 347-373, 1906.

*titanique, sélénieux, de vanadate d'ammonium, de sulfate de cérium et de bichromate de potassium.*

**Méthodes de localisation.** — DE WILDEMANN, puis DE DROOG, ont employé, pour la localisation de ces alcaloïdes, la méthode d'ERRERA : action de l'iodure de potassium iodé sur des coupes, avant et après traitement à l'alcool tartrique. On peut faire le contrôle de cette localisation par l'acide phosphomolybdique, ou par le réactif de FRÖHDE, mais ce dernier réactif donne des résultats très variables.

Nous avons personnellement constaté qu'il est préférable de ne pas plonger les coupes directement dans le réactif iodé, car le précipité est trop abondant. Il est préférable de mettre les coupes dans une goutte d'eau et de faire arriver l'iodure de potassium iodé sous la lamelle; on voit alors très nettement les cellules contiguës à l'exoderme et à l'endoderme donner une réaction très intense. Presque toutes les cellules du parenchyme donnent également un précipité abondant.

**Répartition des alcaloïdes.** — Le *Dendrobium nobile* Lindl. est riche en alcaloïde et la localisation de DE DROOG est très nette. Ces résultats concordent d'ailleurs avec ceux de DE WILDEMANN.

L'alcaloïde est réparti de la façon suivante :

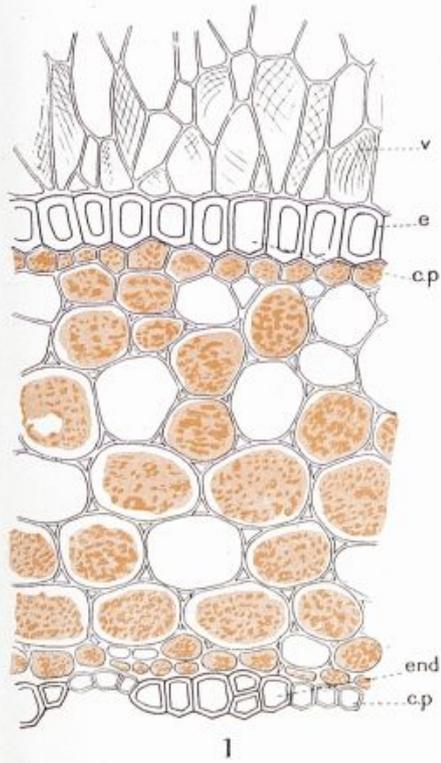
**Racines aériennes.** — Au point végétatif, toutes les cellules, y compris celles qui donneront naissance au voile, sont riches en alcaloïdes; mais, au fur et à mesure que les tissus se différencient, on voit l'alcaloïde émigrer des parties périphériques vers la zone parenchymateuse, où il se maintient exclusivement et en grande abondance, surtout dans les petites cellules adossées à l'endoderme, d'une part, et à l'exoderme (assise scléreuse située immédiatement au-dessous du voile), d'autre part.

La racine ne renferme pas de tanin; aussi la réaction y est-elle très nette. La coloration brune que l'on constate dans le voile et les cellules de l'exoderme ne peut être attribuée à l'alcaloïde, car elle persiste après action de l'alcool tartrique (Pl. IV, 1).

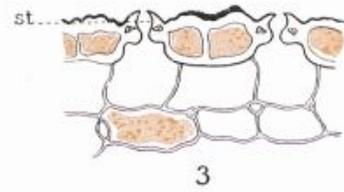
**Tige.** — Dans les cellules parenchymateuses corticales et surtout celles qui entourent les faisceaux, on trouve l'alcaloïde, même dans les cellules qui contiennent des grains d'amidon et de la chlorophylle. L'alcaloïde fait défaut dans l'épiderme et les assises sous-épidermiques; on n'observe, contrairement à ce que nous avons signalé chez les Amaryllidacées, aucun précipité dans les cellules à raphides (Pl. IV, 2, 5).

Les cellules du point végétatif sont riches en base alcaloïdique; il en est de même des premières ébauches foliaires.

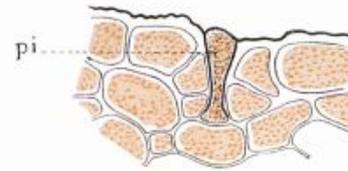
**Feuille.** — Dans la feuille adulte, on trouve une réaction très abondante dans les deux épidermes et dans le parenchyme chlorophyllien. Les poils enfoncés dans l'épiderme renferment de l'alcaloïde. DE WILDEMANN prétend en avoir trouvé dans certaines cellules à raphides (Pl. IV, 3, 4).



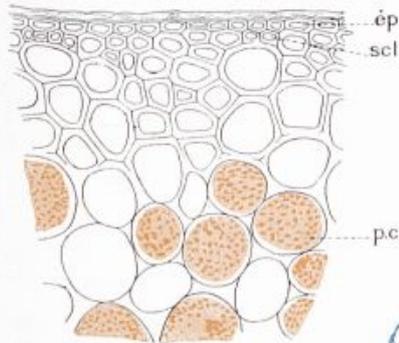
1



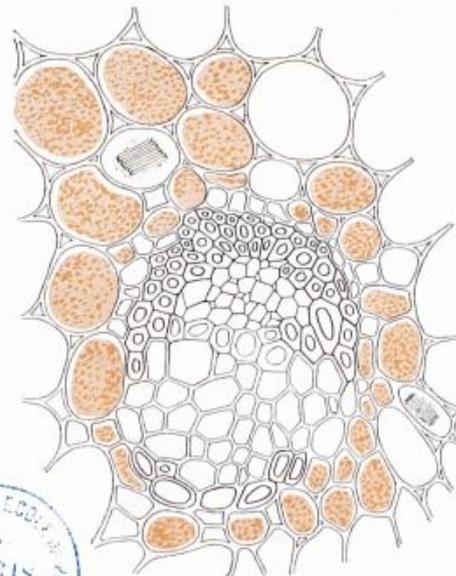
3



4



2



5

D'après EM. DE DRÖG.



BONARD, SC.

*Dendrobium nobile* Lindl. ; 1, racine aérienne ; 2, parenchyme cortical de la tige ;  
3, 4, stomates et poils de la feuille ; 5, faisceau libéro-ligneux de la tige.



*Appareil reproducteur.* — Dans les enveloppes florales, l'alcaloïde se comporte comme dans les feuilles végétatives, mais la réaction est plus abondante que chez ces dernières. La face inférieure du labelle est recouverte de poils pluricellulaires à alcaloïde. Ce dernier se rencontre aussi dans le style, le stigmate, les papilles stigmatiques; enfin, tous les tissus de l'ovaire sont riches en alcaloïdes.

Dans le *Dendrobium Ainsworthii* T. Moore, la répartition est semblable à celle de *D. nobile* (DE WILDEMANN, DE DROOG).

## 2. — Alcaloïde de l'*Eria stellata* Lindl.

La localisation et la répartition ont été faites par DE DROOG, en employant les méthodes indiquées pour les *Dendrobium*.

**Répartition de l'alcaloïde.** — *Racine aérienne* : surtout dans les cellules adossées à l'endoderme et à l'exoderme, et dans quelques cellules du parenchyme cortical.

*Tige bulbeuse.* — Sous l'épiderme, on trouve un tissu riche en amidon et en chlorophylle, où se différencient de petites et grandes cellules. L'alcaloïde se trouve exclusivement dans les petites cellules parenchymateuses. On en trouve également dans les cellules annexes des tubes criblés. Il n'y en a pas dans les cellules à raphides.

*Feuille.* — L'alcaloïde se trouve dans les deux épidermes, dans les cellules du mésophylle et aussi dans les cellules entourant les faisceaux et les cellules annexes des tubes criblés.

## 3. — Alcaloïde du *Phalenopsis Lueddemanniana* Rehb.

La *tige florale*, étudiée par DE DROOG, ne semble pas renfermer d'alcaloïde.

Dans la *racine aérienne*, l'alcaloïde se trouve situé comme précédemment dans les cellules adossées à l'endoderme et à l'exoderme, dans ce cas mal définis, et dans les cellules du parenchyme cortical.

Le sommet végétatif est toujours très riche en base alcaloïdique.

## 4. — Alcaloïde du *Catasetum tabulare* Lindl.

La *tige* ne présente trace d'alcaloïde dans aucun de ses tissus. Lorsqu'on fait agir l'iodure de potassium iodé sur une coupe de cette tige, il se produit bien dans les cellules du parenchyme cortical une coloration brun rouge très intense, qui disparaît par la chaleur et réapparaît par refroidissement. Cette réaction, analogue à celle que donne le glyco-gène, doit être due à la présence de matières hydrocarbonées et non à

celle d'alcaloïdes, car elle se manifeste encore après action de l'alcool tartrique.

Par contre, et c'est là un résultat curieux, l'alcaloïde se trouve dans les deux épidermes de la *feuille*, dans les cellules du mésophylle et au pourtour des faisceaux.

Les *Catasetum Hookeri* Lindl., *C. macrocarpum* Rich., *C. Bungerothii* N. E. Br., *C. discolor* Lindl., se comportent de la même façon que le *C. tabulare* Lindl.

## PIPÉRACÉES

### Pipérine.

La *Pipérine* a été isolée des fruits du Poivre noir (*Piper nigrum* L.) par ØERSTED en 1819. C'est un alcaloïde faiblement basique, que l'on rencontre également dans le Poivre long, *Chavica officinarum* Roxb., et dans les Cubèbes.

Elle se présente sous forme de prismes fusibles à 128-129°, se décomposant à une température plus élevée. Elle est presque insoluble dans l'eau froide, facilement soluble dans l'alcool et l'éther.

**Méthodes de localisation et Répartition de l'alcaloïde.** — Il n'y a pas besoin de réactifs microchimiques pour localiser la pipérine; toutefois, elle se colore en jaune vif par l'hydrate de chloral en solution concentrée; la coloration est persistante, mais passe à l'orangé clair après vingt-quatre heures (HERLANT) (1). Cette réaction ne se produit ni avec la cubébine, ni avec l'essence, ni avec les résines des différents poivres.

La pipérine existe très souvent à l'état de cristaux dans les cellules à essence du fruit de Poivrier. Ces cellules sont réparties dans le mésocarpe, qui est divisé en deux régions: la région externe, avec des éléments de grande dimension, très amylacée, est relativement peu riche en organes sécréteurs; la partie interne, à éléments plus petits, renferme peu d'amidon, mais, par contre, de nombreuses cellules à essence.

Le périsperme (albumen nucellaire) est également un tissu riche en éléments sécréteurs.

D'après HERLANT, le périsperme serait le seul tissu contenant de la pipérine. Les cellules à essence de cet albumen se colorent par la solution de chloral, tandis que le contenu des éléments sécréteurs du mésocarpe n'est pas influencé par ce réactif.

La localisation de l'alcaloïde dans les organes verts (tiges et feuilles) n'a pas été faite, mais il n'est pas douteux qu'il y existe dans les mêmes éléments que dans le fruit.

1. A. HERLANT: L'analyse du poivre de GLUSIUS. Contribution à l'étude des plantes utiles du Congo. *Bull. Ac. roy. de méd. de Belgique*, 8, 832-840, 1894.

## RENONCULACÉES

1. — Alcaloïdes des *Delphinium*.

La *Delphinine* est un alcaloïde existant dans le *Delphinium Staphysagria* L. à côté de trois autres alcaloïdes : la *Delphinoïdine*, la *Delphisine* et la *Staphysagrine*. Son étude a été faite par BRANDES, COURBE, ERDMANN, et enfin MARQUIS. Sa formule est  $C^{22}H^{35}AzO^6$ . C'est un alcaloïde peu soluble dans l'eau, plus soluble dans l'alcool, l'éther et le chloroforme.

**Caractères microchimiques.** — 1° L'iodure de potassium iodé donne un précipité brun kermès;

2° L'acide picrique, le chlorure d'or, la précipitent en jaune;

3° L'acide sulfurique et l'eau de brome donnent un précipité jaune;

4° Quand on la broye avec un petit volume d'acide malique et qu'on ajoute alors un peu d'acide sulfurique, la masse devient orangée, puis rouge foncé, et enfin bleu cobalt (TATTERSALL).

**Méthode de localisation.** — La localisation de cet alcaloïde dans le genre *Delphinium* a été faite par VANDERLINDEN (1), au moyen de la méthode d'ERRERA. La graine a été étudiée par CLAUTRIAU (2).

**Répartition des alcaloïdes dans le *D. Staphysagria* L.** — La répartition des alcaloïdes dans le *D. Staphysagria* L. est la suivante :

**Racine.** — Dans le parenchyme cortical, et surtout dans la partie la plus externe, l'endoderme, le pérycycle, le liber, le cambium.

**Tige.** — Au point végétatif, l'alcaloïde est surtout abondant au centre du méristème et dans les cellules situées à la périphérie, formant les mamelons destinés à produire rameaux et feuilles. Lorsque les tissus se différencient, il apparaît dans le liber des jeunes faisceaux.

Dans la tige adulte, on l'observe dans l'épiderme, la moelle et le liber. Le bois, le sclérenchyme, le parenchyme cortical, les poils, n'en contiennent pas.

**Feuille.** — Dans le pétiole et la nervure médiane, l'iodure de potassium iodé provoque la formation d'un précipité dans l'épiderme, le liber et la moelle.

Dans le limbe, il n'existe, en faible quantité, que dans le liber des

1. E. VANDERLINDEN : Recherches microchimiques sur la présence des alcaloïdes et des glucosides dans la famille des Renonculacées. *Ann. Soc. roy. des Sc. méd. et nat. de Bruxelles*, 10, fasc. I, 1901, — tiré à part, Bruxelles, 1901, 18-97. *Recueil Inst. bot. ERRERA*, 5, 135-178, 1902.

2. CLAUTRIAU : Localisation et signification des alcaloïdes dans quelques graines. *Ann. Soc. belge Microsc.*, 18, 35-54, 1894. *Recueil Inst. bot. ERRERA*, 2, 272, 1906.

nervures secondaires. Les épidermes, les poils, ne donnent aucune réaction positive.

*Fleur.* — Dans les sépales pétaloïdes et les pétales, la delphinine existe en faible quantité autour des nervures. Dans les étamines, elle entoure le faisceau du filet; elle est absente de l'anthere.

Dans l'ovaire, on peut constater la présence d'alcaloïde dans l'épiderme interne de la feuille carpellaire et autour des nervures. Les ovules ne donnent pas une réaction bien nette.

*Graine.* — La localisation de la delphinine dans le *Delphinium Staphysagria* L. a été réalisée par CLAUTRIAU, toujours au moyen de la méthode d'ERRERA. La réaction est beaucoup plus nette et plus caractéristique si on additionne l'iodure de potassium iodé de carbonate d'ammoniaque. En présence d'alcali, les substances albuminoïdiques, les peptones, ne sont pas précipitées par le réactif iodé : elles se colorent simplement en jaune, tandis que l'alcaloïde donne un précipité kermès.

Dans la graine, la delphinine se trouve entièrement située dans l'albumen qui est très développé. Dans le tégument de la graine dans l'embryon, rien n'indique la présence d'un alcaloïde.

**Répartition des alcaloïdes dans le genre *Delphinium*.** — Par la même méthode, VANDERLINDEN a pu caractériser dans d'autres *Delphinium* la présence d'alcaloïdes dont la nature n'est pas encore déterminée, et qui, peut-être, sont identiques à ceux du *D. Staphysagria*.

Dans le *Delphinium hybridum* Steph., la répartition est la suivante :

*Racine.* — Dans la racine adulte, le parenchyme est particulièrement riche en alcaloïde; ce dernier est moins abondant dans l'endoderme et le péricycle. Toutes les cellules libériennes en contiennent, de même que le cambium, où il existe en faible quantité.

*Tige.* — L'alcaloïde se trouve : dans l'épiderme, le liber, le cambium, et les parenchymes cortical et médullaire.

*Feuille.* — Dans le pétiole et la nervure médiane, la répartition est la même que dans la tige. Dans le limbe, on l'observe dans les cellules de l'épiderme, à l'exception des cellules stomatiques, et autour des nervures secondaires.

*Fleur.* — On le rencontre dans l'épiderme des pétales et des sépales pétaloïdes; il est plus abondant dans l'éperon. Dans l'étamine, il entoure le faisceau du filet. Les anthères n'en contiennent pas.

*Fruit.* — Dans l'épiderme et quelques cellules sous-épidermiques des feuilles carpellaires, et aussi dans quelques cellules du mésophylle.

Dans les *D. Ajacis* L., *D. grandiflorum* L., la répartition des alcaloïdes est à peu de chose près identique à celle que l'on trouve dans le *D. hybridum* Steph.

Le *D. Consolida* L., d'après l'auteur, est pauvre en alcaloïde. Dans la racine, on n'en trouve que dans quelques cellules du parenchyme; dans

la tige, dans les cellules épidermiques dont certaines, même, en sont dépourvues. Les feuilles ne semblent pas en renfermer. Dans la fleur on obtient une faible réaction dans les cellules épidermiques des pétales et des sépales. Les follicules en contiennent dans leurs deux épidermes.

## 2. — Alcaloïde du *Caltha palustris* L.

Le *Caltha palustris* L. renferme un alcaloïde peu connu, découvert par JOHANSON (1) et qui, d'après cet auteur, présenterait tous les caractères chimiques et les effets toxiques de la nicotine. D'ailleurs cette plante est appelée en Finlande : *Tabac des Grenouilles*.

**Caractères microchimiques.** — 1° *Iodure de potassium iodé* : précipité brun kermès ;

2° *L'iodure double de mercure et de potassium* : précipité jaune pâle ;

3° *L'acide picrique* : précipité jaune ;

4° *Le perchlorure de fer* : précipité grisâtre ;

5° *L'acide sulfurique concentré* : coloration faiblement rosée, très fugace ;

6° *Le chlorure d'or* : précipité jaune gris ;

7° *Le réactif de MANDELIN*, le *chlorure de platine*, l'*acide phosphomolybdique*, le *tanin* ne le précipitent pas.

**Méthodes de localisation.** — La localisation de cet alcaloïde a été obtenue par E. VANDERLINDEN (2), au moyen de la méthode d'ERRERA, contrôlée par la réaction du *chlorure d'or*.

La réaction nette est celle qu'on obtient avec le chlorure d'or, d'après une méthode indiquée par STRASBURGER (3), pour conserver les préparations de protéides précipités par le chlorure d'or. Les coupes, après avoir été passées à l'eau distillée, sont mises dans une solution faible de chlorure d'or ; on les place ainsi pendant une heure et demie à l'obscurité. On les retire, on les lave, et on les dépose à la lumière dans une solution à 5 p. 100 d'aldéhyde formique, pendant deux heures environ. Le sel d'or est réduit et le précipité d'alcaloïde, primitivement grisâtre, est maintenant d'un noir bleuâtre. Ce procédé est excellent quand on opère sur de grandes cellules à contour bien défini. Pour les tissus denses, tels que le liber, la coloration est diffuse, et il est impossible de bien distinguer les cellules alcaloïdiques.

Nous préférons la méthode à l'iodure de potassium iodé. En déposant les coupes dans l'eau et faisant arriver le réactif sous la lamelle, on obtient des localisations très nettes dans le liber.

1. JOHANSON : *Chemische Untersuchungen der Caltha palustris* L. *Sitzb. der Natur. Ges. zu Dorpat*, 4, 544, 1878.

2. E. VANDERLINDEN : *Loc. cit.*, p. 11 du tiré à part.

3. STRASBURGER : *Das bot. Practicum*, 3 Ausg., 99, 1897.

**Répartition de l'alcaloïde dans le *Caltha palustris* L. — Racine :** Absence d'alcaloïde dans la coiffe, le point végétatif proprement dit et les poils radicaux. Un peu au-dessus du point végétatif, l'alcaloïde est encore peu abondant; dans les coupes longitudinales, on le trouve surtout dans certaines cellules rangées des deux côtés de l'axe. Dans la racine adulte, le précipité par l'iodure de potassium iodé se produit principalement dans deux assises de cellules situées immédiatement sous les cellules externes désorganisées; dans le parenchyme cortical, surtout au voisinage du cylindre central; dans l'endoderme, le péricycle, les cellules annexes des tubes criblés et le parenchyme médullaire. Le bois n'en renferme pas (Pl. V, 4).

**Tige.** — L'alcaloïde existe dans l'épiderme, les cellules compagnes, à la périphérie de la moelle, au contact des faisceaux. Le point végétatif ne renferme pas d'alcaloïde, mais, dès que les tissus se différencient en éléments libéro-ligneux, l'alcaloïde apparaît autour des jeunes faisceaux: il y est très abondant (Pl. V, 4, 5).

**Feuille.** — Dans le pétiole, la répartition est la même que dans la tige. Dans le limbe, l'alcaloïde se trouve dans l'épiderme supérieur et autour des nervures. Les cellules stomatiques n'en renferment pas (Pl. V, 2).

**Fleur.** — Le calice contient de l'alcaloïde autour des nervures des sépales, et aussi dans l'épiderme, mais la réaction est très faible. Dans les étamines, il entoure le filet. Les anthères n'en renferment pas. Le carpelle contient le composé alcaloïdique dans son épiderme interne et dans les faisceaux. Dans les ovules, on obtient une faible réaction dans le tégument externe (Pl. V, 3).

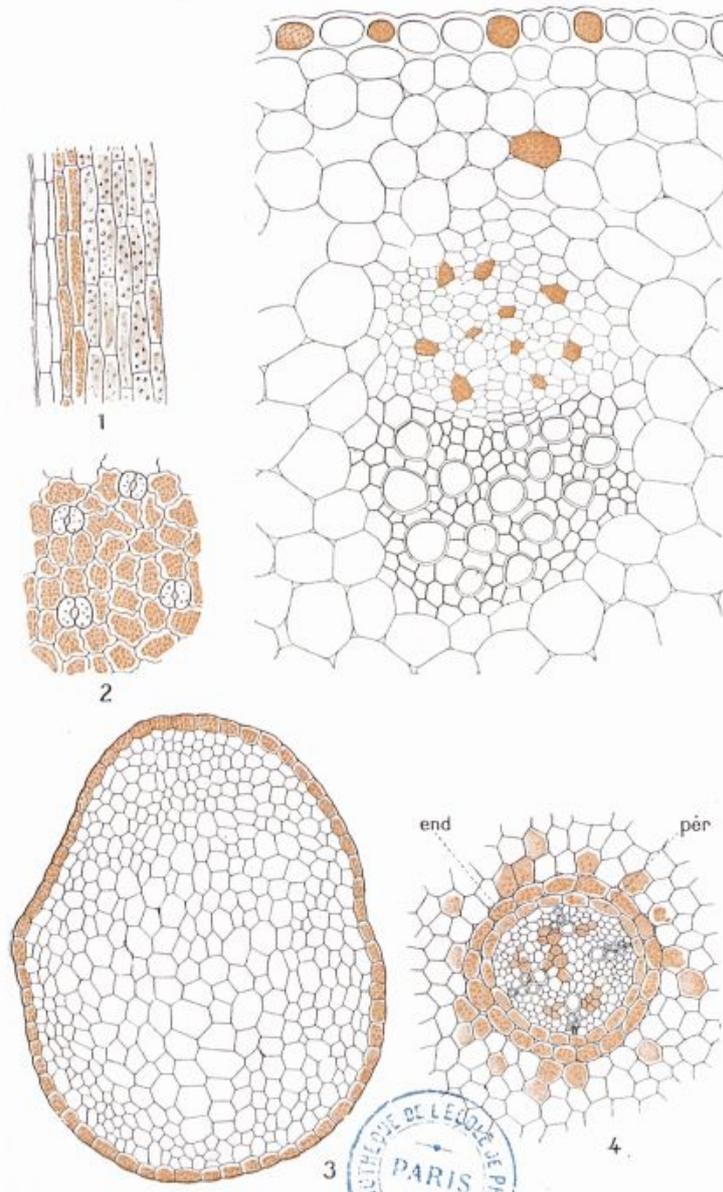
**Graine.** — La graine en renferme très peu et uniquement dans le tégument. L'albumen n'en contient pas.

VANDERLINDEN a remarqué que, vers le mois de juillet, la racine ne renferme pas d'alcaloïde dans les assises externes et le parenchyme cortical; ce composé n'apparaît que vers le mois d'août, à l'époque où la plante perd ses organes aériens. L'apparition de l'alcaloïde dans les racines coïnciderait avec l'entrée de la plante dans la période de repos, pendant laquelle les racines de *Caltha* servent de réservoir à l'amidon. Ce serait, selon l'auteur, un moyen de défense de la plante contre les nombreux animaux qui hibernent sous terre. Au printemps, l'alcaloïde reste dans la racine, alors que l'amidon la quitte. L'alcaloïde ne serait donc pas utilisé par la plante.

### 3. — Alcaloïdes des *Aconitum*.

#### 1. *Aconitum Napellus* L.

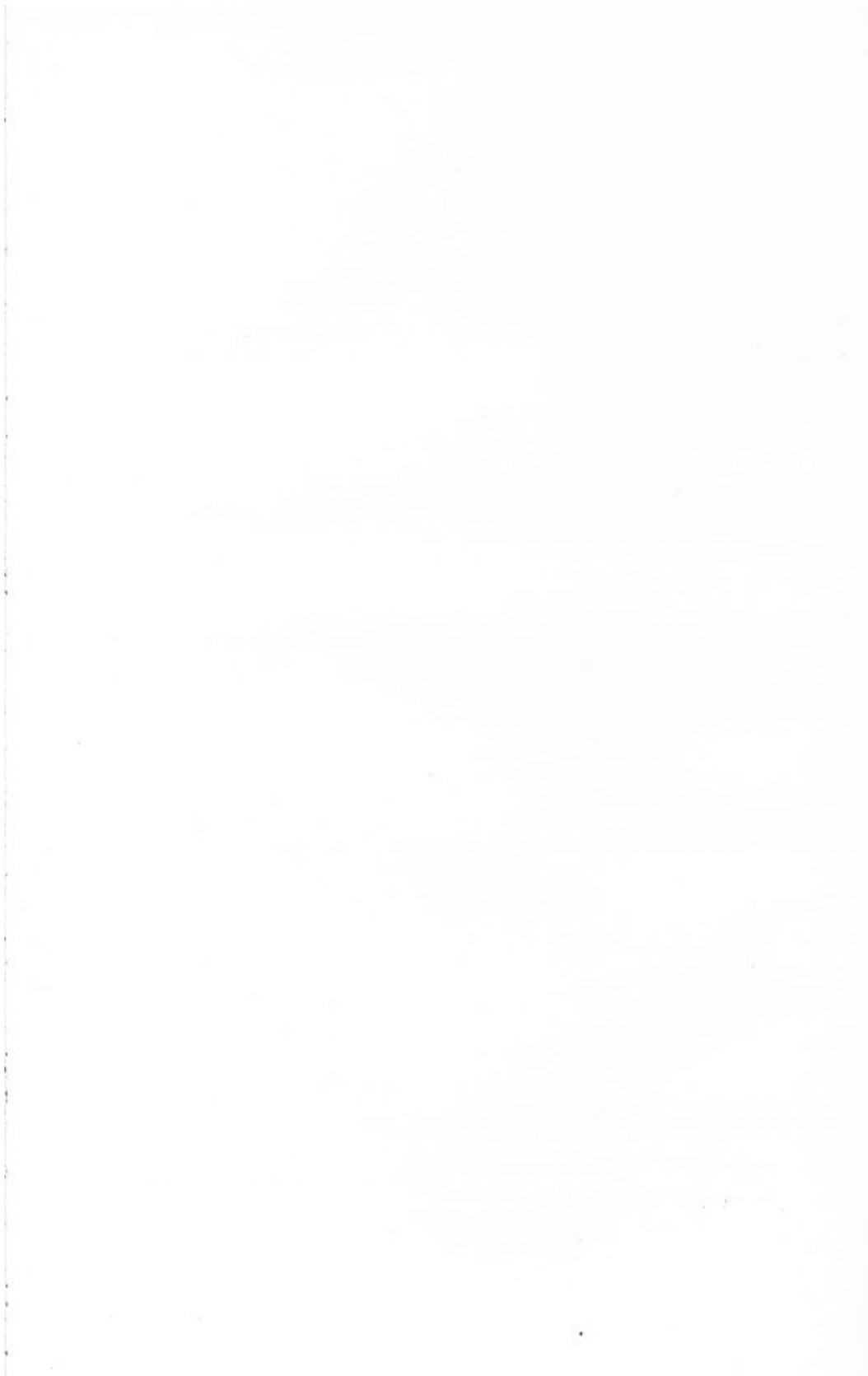
Le principe actif contenu dans l'*Aconitum Napellus* L. a été étudié par GRAVES, DUQUESNEL, GEIGER et HESSE. Le produit que l'on trouve dans



D'après E. VANDERLINDEN.

BONARD, SC.

*Caltha palustris* L. : 1, coupe longitudinale de la partie corticale de la tige; 2, épiderme de la feuille; 3, ovule jeune; 4, cylindre central de la racine; 5, coupe transversale de la tige.



le commerce est le plus souvent amorphe et constitue un mélange de deux bases distinctes; l'une est cristallisée: l'*Aconitine*, l'autre amorphe: la *Picroaconitine*. On a également isolé de l'*A. Napellus* de l'*Aconelline*, de la *Napelline*, de l'*Acolyctine* et de l'*Isoaconitine*.

La formule de l'aconitine cristallisée n'est pas encore définitivement connue; les deux formules probables sont celles de DUNSTAN ( $C^{23}H^{48}AzO^{12}$ ) ou de FREUND et BECK ( $C^{24}H^{47}AzO^{11}$ ).

L'aconitine est presque insoluble dans l'eau, peu soluble dans l'éther, facilement soluble dans l'alcool, la benzine, le chloroforme.

**Caractères microchimiques.** — Les réactions caractéristiques de l'aconitine sont les suivantes:

- 1° L'*iodure de potassium iodé*: précipité brun kermès;
- 2° L'*acide phosphomolybdique*: précipité blanc, devenant bleu à la lumière;
- 3° Le *perchlorure de fer*, le *chlorure d'or*: précipités jaunes;
- 4° Le *tanin*, l'*iodure double de mercure et de potassium*: précipités blancs;
- 5° L'*acide sulfurique concentré* colore l'aconitine en jaune, puis en rouge;
- 6° L'*acide sulfurique*, additionné d'une solution de *saccharose*, produit une coloration rouge carmin;
- 7° L'*acide phosphorique*, très concentré et chauffé vers 80°, provoque une coloration violacée.

**Méthodes de localisation.** — La localisation de l'aconitine dans l'*Aconitum Napellus* L. a été obtenue par ERRERA, MAISTRIAU, CLAUTRIAU (\*) qui se sont servis de l'*iodure de potassium iodé*, de l'*acide sulfurique additionné de saccharose*, et ont contrôlé leurs résultats par les réactions de l'*acide phosphorique*, du *tanin* et de l'*acide phosphomolybdique*.

Nous nous sommes également intéressé à cette recherche, et avons pu obtenir une bonne localisation de l'aconitine en employant surtout l'*iodure de potassium iodé*, l'*acide phosphomolybdique* et, pour contrôle, l'action de l'*acide sulfurique additionné de sucre*. Nos résultats, consignés dans un mémoire déposé à la Bibliothèque de l'École de Pharmacie (\*\*), concordent entièrement avec ceux d'ERRERA, MAISTRIAU, CLAUTRIAU.

Pour caractériser l'aconitine au moyen de l'acide sulfurique, on humecte la coupe d'une solution concentrée à 50 p. 100 de saccharose et on la monte dans de l'acide sulfurique  $SO^4H^2 + H^2O$ , ou de l'acide dilué au 1/3. Au bout de vingt à vingt-cinq minutes, les tissus renfer-

1. ERRERA, MAISTRIAU, CLAUTRIAU: Premières recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes dans les plantes. *Bull. Soc. belg. Microsc.*, **12**, 1885-86, p. 14-18 du tiré à part. *Recueil Inst. bot.* ERRERA, **2**, 163-168, 1906.

2. A. GORIS: Les Aconits. Mémoire déposé à la Bibliothèque de l'École de Pharmacie de Paris pour le prix MENIER 1897.

mant l'alcaloïde prennent une coloration rouge carmin intense; cette réaction est d'autant plus lente que l'acide est moins concentré. L'acide sulfurique seul ne produit pas cette coloration et ne colore pas la solution sucrée.

La réaction de l'acide phosphomolybdique nous a donné également de bons résultats. On se sert d'une solution de phosphomolybdate de soude, additionnée d'acide azotique. Les coupes sont transportées dans ce réactif au moyen d'une aiguille en bois, car le phosphomolybdate attaque instantanément l'acier pour donner une coloration et un précipité bleus intenses. Après quelque temps, il se forme un précipité blanc qui, peu à peu, devient bleu à la lumière. On fait l'examen 3 ou 4 heures après avoir monté la préparation. Si l'on examine les coupes deux ou trois jours après, on constate que toutes les cellules des tissus alcaloïdiques ont leurs parois fortement colorées en bleu. Cela tient à ce que la couleur bleue, provenant de la réduction de l'acide phosphomolybdique, s'est fixée sur les membranes à la façon d'une teinture.

**Répartition de l'Aconitine dans l'*Aconitum Napellus* L. — Radicelle.** — Se trouve localisée autour du faisceau, et dans la couche sous-épidermique; les poils radicaux n'en renferment pas. Au point végétatif, l'alcaloïde se rencontre dans toutes les cellules, où il y a une véritable accumulation de ce principe; lorsque la différenciation du cylindre central s'effectue, la partie axiale n'en renferme plus, et l'alcaloïde se porte exclusivement au pourtour du faisceau et dans la couche sous-épidermique.

**Racine.** — Dans la partie charnue, l'aconitine se rencontre dans tout le tissu, sauf dans l'assise externe et les vaisseaux. La réaction semble toutefois plus intense dans le liber.

Dans les écailles foliacées du bourgeon du tubercule de remplacement, la proportion d'aconitine est considérable. L'épiderme, les assises sous-épidermiques sont riches en principe actif, et tout le parenchyme donne une réaction positive.

**Tige.** — L'aconitine se rencontre surtout autour des faisceaux libéro-ligneux, aussi bien autour du liber que du parenchyme ligneux, dans le liber et dans les assises épidermiques et sous-épidermiques. La réaction débute par les assises épidermiques et sous-épidermiques, et par le liber. La quantité est faible dans le parenchyme cortical et la moelle. A chaque nœud, le faisceau qui se rend dans la feuille est entouré d'une zone beaucoup plus riche en alcaloïde.

**Pétiole.** — Le pétiole est canaliculé. La répartition est identique à celle de la tige, mais l'aconitine s'y trouve en proportion plus grande et accumulée aux deux bords du pétiole.

**Feuille.** — Dans tout le parenchyme, avec accumulation autour des faisceaux; les cellules stomatiques, qui dans d'autres plantes ne renfer-

ment pas d'alcaloïdes, donnent dans ce cas une réaction très intense. Les poils renferment aussi des alcaloïdes.

*Fleur.* — La réaction à l'acide sulfurique et au saccharose est masquée par le principe colorant bleu de la fleur, qui rougit sous l'action de l'acide sulfurique. Il est préférable, dans ce cas, d'employer l'*iodure de potassium iodé*.

Dans les pièces florales (calice et corolle), l'alcaloïde existe principalement dans l'épiderme et autour des faisceaux. Le casque et les ailes renferment de l'aconitine en assez grande quantité. Dans les pétales modifiés et les étamines, la proportion diminue beaucoup, et il se localise principalement à leur base. On n'en trouve pas dans les anthères.

Dans l'ovaire, l'aconitine a une tendance à se rassembler dans les cellules sous-épidermiques. L'ovule est très riche en principe actif.

*Graine.* — La localisation dans la graine a été faite tout particulièrement par CLAUTRIAU<sup>(1)</sup> et par BARTH<sup>(2)</sup> à l'aide de l'*iodure de potassium iodé*, additionné de carbonate d'ammoniaque. L'alcaloïde n'existe ni dans l'embryon, ni dans le tégument; il se localise dans l'albumen et particulièrement dans la partie périphérique de ce tissu.

Dans leurs premières recherches, ERRERA, MAISTRIAU, CLAUTRIAU avaient admis que la membrane des cellules sous-épidermiques de la graine pouvait contenir de l'alcaloïde. Dans son travail ultérieur, CLAUTRIAU a montré que l'alcaloïde ne se trouve pas dans la membrane, mais est situé dans l'intérieur de ces cellules aplaties.

## II. *Aconitum Lycoctonum* L.

Les alcaloïdes de l'*A. Lycoctonum* L. seraient, d'après HUBSCHMANN, l'*Acolyctine* et la *Lycoctonine*; plus tard, DRAGENDORFF et SPAHN isolèrent de la racine la *Lycaconitine* et la *Myoctonine*. D'après les derniers travaux de WRIGHT et LUFF, l'*A. Lycoctonum* contiendrait de l'*Aconitine* et de la *Pseudo-aconitine*. Les deux corps isolés par HUBSCHMANN n'étaient que des produits de dédoublement de ces bases et seraient identiques à l'*Aconine* et à la *Pseudo-aconine*.

**Méthodes de localisation.** — La localisation de ces alcaloïdes a été tentée par VANDERLINDEN<sup>(3)</sup> au moyen de l'*iodure de potassium iodé*, de l'*iodure double de mercure et de potassium*, de l'*acide phosphomolybdique*, de l'*acide picrique*.

**Répartition de l'alcaloïde d'*A. Lycoctonum* L.** — *Racine*: Endoderme, péricycle, liber, à l'exception des tubes criblés, cambium, couche externe de la moelle.

1. G. CLAUTRIAU: *Loc. cit.*, 45, et *Recueil Inst. bot.* ERRERA, *loc. cit.*, 272.

2. H. BARTH: *Loc. cit. Dissert.*, 36-40.

3. VANDERLINDEN: *Loc. cit.*

*Tige* : dans le liber, le cambium et la moelle.

*Feuille* : dans le liber exclusivement.

*Fleur* : dans les deux épidermes et le parenchyme des sépales, au voisinage des faisceaux; les poils ne donnent aucune réaction. Dans les pétales, l'alcaloïde se rencontre dans le parenchyme et dans le liber du faisceau central. Dans les étamines, il se localise autour du faisceau du filet. Les anthères n'en contiennent pas. L'ovaire renferme les alcaloïdes dans le parenchyme et l'épiderme externe de la feuille carpellaire. D'après l'auteur, l'ovule ne renfermerait pas d'alcaloïde (?).

### III. *Aconitum Anthora* L.

Les alcaloïdes contenus dans l'*A. Anthora* L. sont encore peu connus. Cependant DRAGENDORFF a pu en isoler de l'*Aconitine*.

**Méthodes de localisation.** — La localisation des principes actifs a été faite par VANDERLINDEN (1) au moyen de l'*iodure de potassium iodé*, qui donne un précipité brun kermès; de l'*acide phosphomolybdique*, qui donne un précipité jaune pâle; du *chlorure d'or*, qui donne un précipité gris, et de l'*acide picrique* qui donne un précipité jaune.

**Répartition de l'alcaloïde dans l'*A. Anthora* L.** — *Racine.* — L'alcaloïde est situé dans tout le parenchyme; il n'existe ni dans les poils radicaux, ni dans le point végétatif de la racine.

*Tige.* — Dans toutes les cellules du liber, et dans les tubes criblés(?); c'est au voisinage des cribles que la réaction est la plus intense. On rencontre également l'alcaloïde dans la partie de la moelle qui touche aux faisceaux.

*Feuille.* — On n'obtient de précipité que dans les cellules du parenchyme cortical qui bordent le liber. Le limbe ne renferme pas d'alcaloïde.

*Fleur.* — Il en est de même pour les fleurs, sauf pour l'ovaire, qui renferme de l'alcaloïde dans ses parties externes. Les ovules n'en contiennent pas.

On voit donc qu'il y a une grande différence dans la répartition des alcaloïdes dans l'*A. Napellus* L. et les *A. Lycoctonum* L. et *A. Anthora* L. Ces deux derniers sont bien moins riches que l'*Aconit Napel*.

### 4. — *Thalictrine*.

La *Thalictrine* est un alcaloïde qui a été isolé du *Thalictrum macrocarpum* Gren., par DOASSANS et MOURRUT; VANDERLINDEN (2) n'a pas obtenu de réaction alcaloïdique avec le *Th. anemonoides* Michx et le *Th. adiantifolium* Bess.

M<sup>lle</sup> LUISA CUOGHI-COSTANTINI a étudié le *Th. flavum* L. et le *Th.*

1. E. VANDERLINDEN: *Loc. cit.*

2. E. VANDERLINDEN: *Loc. cit.*, 36.

*aquilegifolium* L. et a pu y caractériser un alcaloïde. Nous avons répété ses expériences sur le *Th. flavum* L. et pouvons confirmer en tous points ses conclusions. Les réactions sont plus nettes qu'avec le *Th. aquilegifolium* L.

**Caractères microchimiques.** — Les réactifs employés par M<sup>lle</sup> CUOGHI-COSTANTINI (1) sont l'iodure de potassium iodé, le chlorure de zinc iodé, l'iodure de bismuth et de potassium.

Pour les semences, on emploie de préférence :

1° L'acide phosphomolybdique, qui y produit, après quelques instants, un précipité blanc, faiblement visible ;

2° Le chlorure de zinc iodé, qui donne également la réaction des alcaloïdes ;

3° Les vapeurs d'iode, qui donnent, dans les cellules de la périphérie de l'albumen, une coloration rouge brun très nette.

Après action de l'alcool tartrique, on n'obtient plus ces réactions.

**Répartition de l'alcaloïde.** — Dans la racine, l'alcaloïde est surtout situé dans le parenchyme cortical, qui est très développé.

Dans le rhizome : parenchyme cortical, liber, rayons médullaires et moelle au pourtour des faisceaux donnent les réactions des alcaloïdes.

Pour les feuilles et les pédoncules, nous recommandons de monter les coupes dans une goutte d'eau et de faire arriver l'iodure de potassium iodé sous la lamelle. On trouve l'alcaloïde dans les cellules épidermiques, dans quelques cellules du parenchyme cortical et de l'endoderme, et dans le liber.

Dans les graines, l'alcaloïde est, d'après M<sup>lle</sup> CUOGHI-COSTANTINI, localisé dans la périphérie de l'albumen, formant ainsi un revêtement de deux ou trois assises de cellules riches en alcaloïdes, et dans le liber des faisceaux de la radicule.

##### 5. — Alcaloïdes de l'*Isopyrum*.

MAC DOUGAL (2) indique, dans les cellules épidermiques des tiges et des feuilles, dans l'endoderme et dans quelques cellules corticales de l'*Isopyrum biternatum* Torr., la présence d'une substance amère, qui précipite en brun rouge par le réactif iodo-ioduré, en blanc par l'iodure de mercure et de potassium.

1. M<sup>lle</sup> LUISA CUOGHI-COSTANTINI: Nuove ricerche sulla localizzazione microchimica di alcaloidi e glucosidi in alcune « Ranunculacee ». — *Atti del reale. Istituto veneto di scienze, lettere ed arti*, 71, 1160, 1911-1912.

2. MAC DOUGAL: A contribution to the physiology of the roots tubers of *Isopyrum biternatum* Torr. *Minnesota Bot. Studies*, 501-516, 1896.

6. — Alcaloïdes des *Adonis*.

Les réactions microchimiques ont permis à VANDERLINDEN (1) de signaler la présence d'un alcaloïde dans l'*Adonis vernalis* L., alors que l'*Adonis aestivalis* L. semblerait ne contenir ni alcaloïde, ni glucoside.

Cette substance donne un précipité brun kermès avec le réactif iodo-ioduré, jaune grisâtre avec l'iodure double de mercure et de potassium, gris sombre avec le tanin. L'acide phosphomolybdique la précipite en jaune pâle; le précipité devient ensuite bleuâtre. Avec le chlorure d'or, il se produit un léger précipité jaune, qui noircit peu à peu.

**Répartition de l'alcaloïde.** — Dans la racine et le rhizome, cet alcaloïde serait situé dans le liber, le péricycle et l'endoderme.

Dans les bourgeons souterrains, le point végétatif proprement dit ne renfermerait pas de base alcaloïdique, mais, à une faible distance de ce point, à l'endroit où les tissus ne sont pas encore différenciés, on obtient un précipité dans toutes les cellules. Il n'y a que deux ou trois assises externes qui ne donnent pas la réaction. Dans les parties où les tissus sont partiellement différenciés, les réactions se montrent surtout autour des faisceaux en formation. Dans les écailles qui recouvrent le point végétatif des tiges, l'alcaloïde est situé dans les cellules épidermiques.

Les tiges et les feuilles ne renferment pas d'alcaloïdes.

M<sup>lle</sup> LUISA CUOGHI-COSTANTINI (2) a étudié l'*A. aestivalis* et, contrairement à VANDERLINDEN, elle trouve une réaction très nette, dans la racine, par l'iodure de potassium iodé, le chlorure de zinc iodé et l'iodure double de bismuth et de potassium. L'alcaloïde se trouve dans le parenchyme cortical et le liber, et disparaît par action de l'alcool tartrique.

Les semences ne renferment pas d'alcaloïdes; elles donnent bien un abondant précipité par le réactif iodo-ioduré, mais ce précipité est dû aux matières albuminoïdes, car il persiste après action de l'alcool tartrique. Par contre, la semence renfermerait un glucoside, car l'acide sulfurique et le naphthol  $\alpha$  ou le thymol donnent des réactions colorées, que l'auteur attribue à des composés glucosidiques.

7. — Alcaloïde des *Nigella*.

SCHNEIDER a signalé la présence d'un alcaloïde dans le *Nigella damascena* L. : la *Damascénine*, ayant pour formule  $C^{16}H^{19}AzO^3$ . C'est une substance cristallisant en prismes, fondant à 27°, insoluble dans l'eau froide, soluble dans l'alcool en donnant une fluorescence bleue.

1. E. VANDERLINDEN : *Loc. cit.*, 32.

2. M<sup>lle</sup> LUISA CUOGHI-COSTANTINI : *Loc. cit.*, 1163.

PAOLO PELLOCANI crut avoir trouvé deux alcaloïdes dans le *N. sativa* L. : la *Nigelline* et la *Connigelline*; mais GREENISH démontra qu'il avait traité le *N. damascena* L., et non le *N. sativa* L.

**Répartition de l'alcaloïde dans le *Nigella damascena* L.** — VANDELINDEN (1) a étudié la localisation et la répartition de l'alcaloïde dans le *N. damascena* L., par la méthode d'ERRERA.

La racine renferme un peu d'alcaloïde dans le cambium, le péricycle, l'endoderme, et quelques cellules parenchymateuses situées à la périphérie de l'organe.

Les feuilles, les tiges, les fleurs n'ont pas donné de réaction.

Il n'a pas trouvé la réaction des alcaloïdes dans les graines. Ce résultat est d'autant plus surprenant que l'alcaloïde a été extrait de cet organe par SCHNEIDER.

Enfin, fait plus curieux encore, la réaction ne serait pas positive avec tous les individus de *N. damascena*, dont les uns donneraient une réaction et d'autres pas. La composition du sol semblerait intervenir, car les racines de plantes cultivées dans un sol très riche renferment presque toujours de l'alcaloïde, tandis que celles croissant dans un sol pauvre n'en renferment pas, ou très peu.

**Répartition de l'alcaloïde dans le *N. sativa* L.** — Le *Nigella sativa* L., étudié par le même auteur, n'a donné aucune réaction permettant de croire à la présence d'alcaloïdes dans ses différents organes.

M<sup>lle</sup> CUOGHI-COSTANTINI (2), qui a refait ces localisations, trouve des alcaloïdes dans les racines de *N. damascena* L., tandis qu'il n'y en aurait pas dans la racine de *N. sativa* L. Par contre, elle trouve de l'alcaloïde dans les fruits et les graines de ces deux espèces de *Nigella*.

Dans le fruit, l'alcaloïde se trouverait dans les deux épidermes.

Dans la graine, l'alcaloïde est surtout situé à la périphérie de l'albumen, mais il est masqué par la présence d'une matière albuminoïde, surtout située dans la partie interne de l'albumen, de sorte qu'après le traitement à l'alcool tartrique, puis à l'iodure de potassium iodé, les parties externes de l'albumen sont claires, tandis que le centre est fortement coloré.

Le *N. damascena* L. est plus riche en alcaloïde que le *N. sativa* L.

#### 8. — Alcaloïdes de l'*Hydrastis* (*Hydrastine* et *Berbérine*).

L'*Hydrastis canadensis* L. renferme deux alcaloïdes : l'*Hydrastine* et la *Berbérine*.

L'*Hydrastine* a été entrevue en 1851 par DURAND et étudiée en 1862 par PERRINS. Sa formule est C<sup>11</sup>H<sup>14</sup>AzO<sup>6</sup>. L'*hydrastine* est insoluble dans

1. E. VANDELINDEN : *Loc. cit.*, 42.

2. M<sup>lle</sup> LUISA CUOGHI-COSTANTINI : *Loc. cit.*, 1166.

l'eau, assez soluble dans l'alcool et l'éther, très soluble dans la benzine et le chloroforme.

La *Berbérine* a pour formule  $C^{20}H^{19}AzO^5$ . C'est un alcaloïde peu soluble dans l'eau froide, le chloroforme et la benzine, facilement soluble dans l'eau bouillante et l'alcool, insoluble dans l'éther; elle donne des sels peu solubles et colorés.

**Caractères microchimiques.** — *A) Hydrastine* : 1° L'acide sulfurique additionné de molybdate d'ammonium colore l'hydrastine en vert olive (ASTOLFOI). Cette réaction ne se produit qu'avec l'acide sulfurique concentré; on n'obtient aucune coloration si l'on prend l'acide de formule  $SO^2H^2 + H^2O$ .

2° L'acide sulfurique concentré additionné d'acide nitrique lui communique une coloration jaune d'or.

3° Le réactif le plus sensible est, à notre avis, le réactif de MANDELIN (acide sulfurique + vanadate d'ammonium), que l'on peut préparer avec un acide dilué. L'hydrastine donne, au contact de ce réactif, une coloration rouge sang intense. Cette réaction est d'autant plus intéressante que la berbérine ne la donne pas.

*B) Berbérine* : 1° L'acide sulfurique concentré dissout la berbérine et la colore en brun rouge;

2° L'acide sulfurique à 50 p. 100 d'acide sulfurique additionné de bichromate ou iodate de potasse donne une coloration pourpre intense pouvant être précédée d'une coloration brune;

3° Les acides dilués (acide sulfurique, acide azotique) donnent des sels insolubles qui cristallisent facilement;

4° L'ammoniaque colore en brun les cellules à berbérine;

5° L'acide nitrique leur donne une coloration rouge brun;

6° Le sulfure d'ammonium donne une réaction semblable à celle de l'ammoniaque;

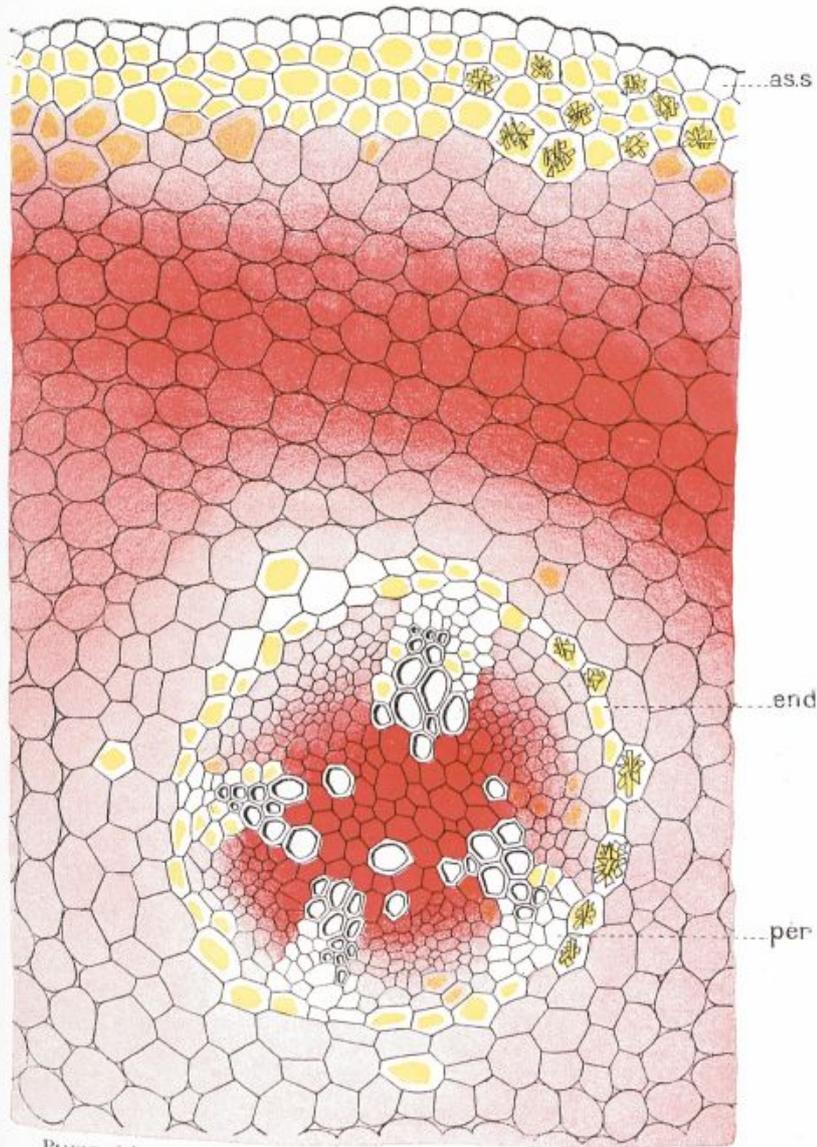
7° Si, à une solution de berbérine, on ajoute de la soude à 10 p. 100 et quatre ou cinq gouttes d'acétone et que l'on chauffe, on obtient des cristaux d'acétone-berbérine (BAUER).

8° L'iodure de potassium iodé, en solution diluée, donne des cristaux colorés en vert. Si la solution est concentrée, les cristaux sont jaune brun ou rouge brun. Si on emploie une solution alcoolique d'iodure de potassium iodé, les cristaux formés se montrent sous l'aspect de paillettes rouge brun (L. SAUVAN);

9° L'eau de brome donne un précipité rouge brun.

**Méthodes de localisation et Répartition des alcaloïdes dans l'*Hydrastis canadensis* L.** — O. HERMANN (1) trouve la berbérine

1. O. HERMANN : Nachweis organ. Verbindungen in vegetabil. Geweben. *Dissert.* Leipzig, 13, 1876.



PIAULT, del.

BONARD, sc.

*Hydrastis canadensis* L.: Répartition de l'hydrastine et de la berbérine dans la racine. Formation des cristaux de sulfate de berbérine sous l'action du réactif.





dans les cellules du parenchyme cortical et dans les membranes des vaisseaux du bois des tissus souterrains, en employant le procédé indiqué par BŒDEKER pour la recherche de cet alcaloïde dans le *Berberis*.

HERDER (1) a confirmé ces résultats au moyen de la précipitation par l'iode de cæsium et de mercure. Il prétend avoir pu distinguer la berbérine d'avec les autres alcaloïdes par la différence d'aspect des précipités, la berbérine donnant des cristaux jaunes, l'hydrastine un précipité blanc amorphe.

GIUSEPPE ASTOLFONI (2) a étudié la répartition de l'hydrastine dans des rhizomes secs d'*Hydrastis canadensis* qu'il fait ramollir en les laissant quelques jours dans un mélange d'alcool et d'ammoniaque. Les coupes sont laissées quelques minutes dans une solution sulfurique de molybdate d'ammoniaque. La zone corticale externe se colore en vert intense, tandis que le parenchyme cortical interne prend une teinte vert clair très pâle. Dans le liber et la zone ligneuse, la coloration devient plus foncée. La moelle se colore en vert pâle. Après une dizaine de minutes, tous les faisceaux et les fibres scléreuses prennent une couleur vert olive très nette et caractéristique. Il est certain que cette coloration des éléments lignifiés n'est pas due à la présence d'hydrastine, mais à une fixation postérieure de la matière colorante sur les parois.

Avec l'acide sulfurique additionné d'acide nitrique, on obtient une coloration jaune dans les mêmes tissus, mais cette coloration disparaît peu à peu, par suite de l'action oxydante de l'acide nitrique.

O. TUNMANN (3), en 1912, expose les résultats obtenus par les différents auteurs allemands, et s'occupe plus particulièrement de la recherche de la berbérine par microsublimation.

Nous avons pu avoir à notre disposition une assez grande quantité de rhizomes frais d'*Hydrastis* et étudier tout particulièrement la localisation des deux alcaloïdes existant dans cette plante.

Il est préférable de s'adresser tout d'abord à la racine, où la localisation est beaucoup plus nette. Ces racines ont une structure primaire, comme la plupart des racines de Renonculacées, avec quelques vaisseaux de bois secondaire.

*Racine.* — La répartition de la berbérine est facile à voir. Il suffit de monter les coupes dans un peu d'eau glycinée, et les cellules à berbérine, colorées naturellement en jaune, sont très nettement délimitées. On les trouve immédiatement sous l'assise subéreuse, où les deux ou

1. HERDER: Ueber einige neue allgemeine Alkaloidreagentien und deren mikrochemischen Verwendung, *Arch. d. Pharm.*, 244, 132, 1906. *Dissert.* Strasbourg, 33, 1905.

2. GIUSEPPE ASTOLFONI: Ricerche farmacognostiche e microchimiche nel rizoma d'*Hydrastis canadensis*. *Boll. chim. farmaceut.*, 43, 121, 1904.

3. O. TUNMANN: *Handelsbericht, Gehe U. Co.*, 179, 1912.

trois premières rangées sont toutes colorées en jaune ; leur nombre va diminuant et, vers la partie la plus interne du parenchyme cortical, il n'y a plus que de très rares cellules à berbérine. On les retrouve dans l'endoderme et dans les cellules du parenchyme ligneux accolées aux vaisseaux du bois primaire. Les parois de ces vaisseaux sont légèrement colorées en jaune, mais il n'est pas possible de dire si elles renferment de la berbérine.

Le liber et la partie interne et parenchymateuse du cylindre central ne renferment pas de berbérine.

Si l'on fait agir sur la coupe de l'eau additionnée d'acide azotique à 4 p. 100, on obtient, avec la berbérine, des cristaux aiguillés très nets répandus un peu partout dans la coupe, mais toutefois en plus grand nombre dans les zones à berbérine.

Si, au lieu de monter les préparations dans l'eau glycinée, on veut employer la solution de chlorure de sodium de façon à plasmolyser les cellules à berbérine, il ne tarde pas à se former directement des aiguilles jaunâtres de chlorhydrate de berbérine.

*L'hydrastine* se localise surtout au moyen du réactif de MANDELIN. Toutefois, lorsqu'on traite la coupe par l'iodure de potassium iodé, il se produit un précipité intense dans tous les parenchymes. On pourrait déjà en déduire que, si l'hydrastine existe à côté de la berbérine, il y en a surtout dans les tissus qui ne renferment pas ce dernier alcaloïde. En fait, lorsqu'on laisse tomber une coupe de racine dans une goutte de réactif de MANDELIN déposée préalablement sur une lame, et qu'on recouvre le tout d'une lamelle pour faire l'examen, on constate que, très rapidement, tout le parenchyme cortical interne, le centre du cylindre central, quelques cellules de l'endoderme, le liber, se colorent en rouge sang intense, tandis que les assises externes du parenchyme restent jaunes pendant quelques instants. Cette coloration rouge est due à l'hydrastine ; il se forme ensuite dans ces tissus des cristaux de sulfate de berbérine, tandis que, dans les parties colorées en rouge, on ne trouve aucun de ces cristaux (Pl. VI).

*Rhizome.* — Avec le rhizome, les réactions sont moins nettes, à cause de la trop forte proportion de berbérine que contient cet organe.

Toutefois, on peut dire que toute la zone corticale et les tissus du cylindre central avoisinant le bois sont riches en berbérine, alors que l'hydrastine occupe toute la partie parenchymateuse du cylindre central.

Nous ne sommes pas arrivé à de bons résultats avec la réaction de BAUER à l'acétone. On obtient difficilement des cristaux et ceux-ci sont répandus dans toute la préparation.

L'iodure de baryum et de mercure ne donne pas de meilleurs résultats ; on obtient un précipité blanc amorphe dans les tissus qui renferment l'hy-

drastine, et un précipité jaunâtre mêlé de cristaux dans les régions à berbérine.

A ces méthodes nous préférons les réactions que nous venons d'indiquer pour la racine, et dont le contraste est plus frappant.

## BERBÉRIDACÉES

### 1. — Berbérine.

La *Berberine* a été isolée en 1826 du *Xanthoxylum Clava-Herculis* L. par CHEVALIER et PELLETAN et, en 1835, du *Berberis vulgaris* L. par BUCHNER. Elle existe également dans d'autres plantes : *Hydrastis canadensis* L., *Coptis Teeta* Wall., *Nandina domestica* Thunb., et dans divers *Cocculus*, *Podophyllum*, *Cosciniun*, *Geoffroya*. Ses principaux caractères et ses réactions microchimiques ont été exposés à propos de l'*Hydrastis canadensis*.

**Méthodes de localisation.** — En 1849, BÆDEKER fit la première recherche microchimique de la berbérine; il obtint des cristaux de nitrate de berbérine dans les membranes cellulaires de la racine de *Berberis vulgaris* L. et de *Chasmanthera palmata* H. Bn. (*Cocculus palmatus* DC.) Depuis, cette étude a été reprise par O. HERMANN, puis par ROSOLL, et enfin par L. SAUVAN, à l'aide des méthodes suivantes :

HERMANN, puis ROSOLL, ont employé, avec une légère modification, le procédé indiqué précédemment par BÆDEKER. On traite les coupes par l'alcool, puis on ajoute une solution à 2 p. 100 d'acide nitrique. Le suc cellulaire, jaune, devient rapidement jaune brun, puis il se forme des cristaux étoilés jaune paille et le suc cellulaire se décolore. Cette réaction, qui a toutes nos préférences, peut s'obtenir très bien sans le traitement préalable à l'alcool, qui dissout toujours un peu de berbérine. Il faut employer une solution à 2 ou à 4 p. 100 et faire arriver le réactif sous la lamelle : on assiste ainsi à la cristallisation du nitrate de berbérine. Ces cristaux ne se forment bien que dans la racine; dans les tiges, la cristallisation est parfois longue à se faire et il faut même avouer qu'on l'obtient rarement, sans que l'on puisse savoir les causes de cet insuccès.

On peut contrôler cette réaction par celles de l'ammoniaque, de l'eau de brome, en ayant soin de faire arriver les réactifs sous la lamelle, la coupe étant montée dans une goutte de solution concentrée de chlorure de sodium.

L'acide azotique concentré donne une coloration rouge intense. Pour réussir cette réaction, il est préférable d'employer de l'acide azotique dilué au tiers et de faire arriver le réactif sous la lamelle; la réaction

est moins brutale et l'on peut voir toutes les cellules à berbérine se colorer successivement en rouge, puis en rouge brun.

Nous ne conseillons pas l'emploi de l'acide sulfurique additionné de bichromate, d'iodate de potassium, de sulfate de cérium, ou de vanadate d'ammonium.

Ces réactifs ne nous ont pas donné de bons résultats.

L. SAUVAN préfère la méthode à l'iodure de potassium iodé. Il ne faut jamais l'employer directement, parce que la réaction est trop intense et l'on ne peut distinguer le précipité dans les cellules. En montant les préparations dans l'eau et faisant arriver la solution iodo-iodurée sous la lamelle, on assiste à la formation de sphéro-cristaux de couleur verdâtre qui prennent naissance dans les cellules à berbérine, et qui sont très visibles avant que la préparation ne soit obscurcie par l'abondant précipité cristallin qui se forme peu à peu. Cette cristallisation est aussi curieuse à examiner que celle obtenue avec l'acide azotique dilué. Elle se produit également beaucoup mieux avec la racine qu'avec la tige. (A. GORIS.)

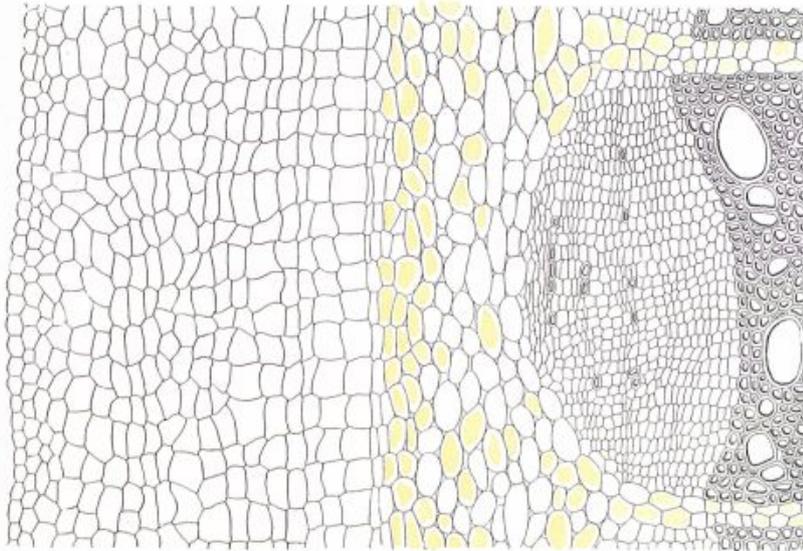
Répartition de la Berbérine dans le *Berberis vulgaris* L. —

*Racine* : On trouve la berbérine dans le parenchyme cortical, le liber, le cambium et les rayons médullaires; on la trouve aussi dans les vaisseaux du bois et les fibres ligneuses. Les membranes des parenchymes libérien, cortical et médullaire en sont dépourvues. Les fibres libériennes, dans les racines âgées, ont leurs membranes colorées en jaune par la berbérine (Pl. VII).

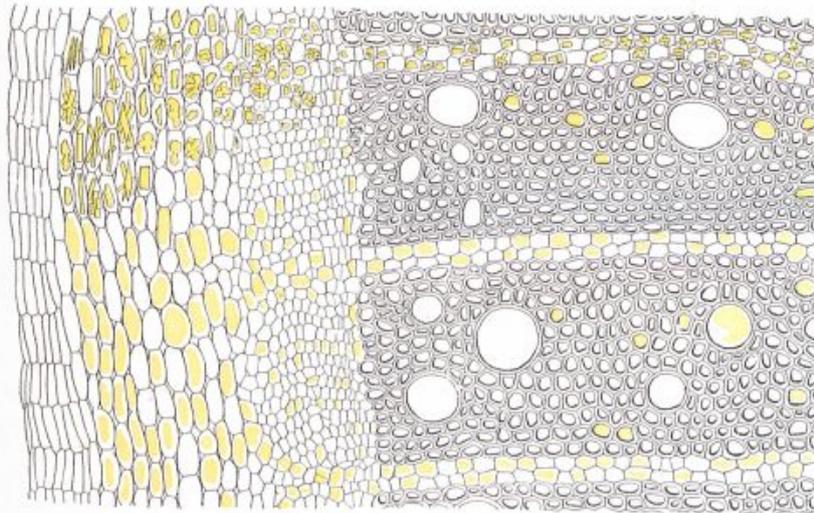
*Tige*. — Dans les jeunes pousses, la berbérine se localise dans les cellules du parenchyme cortical, du liber et du cambium. En outre, les cellules des rayons médullaires, quelques cellules de la moelle au voisinage des faisceaux, contiennent de la berbérine. La berbérine existe dans le suc cellulaire et jamais dans les membranes. Cela se voit facilement au moyen de l'acide nitrique, ou de la solution sulfurique de bichromate ou d'iodate de potassium qui colore d'une manière intense le suc cellulaire et ne produit aucune réaction colorée dans les membranes, si ce n'est après un certain temps, et lorsque la diffusion s'est forcément produite. De même, dans les coupes très minces, si les cellules sont privées de leur contenu, on n'observe aucune coloration dans les parois cellulaires, ce qui montre bien que l'alcaloïde n'existe que dans les membranes des vaisseaux et des fibres du bois. Dans une tige âgée, l'assise subéro-phellodermique a pris naissance au milieu du parenchyme cortical, et toute la partie située au-dessus de cette assise ne renferme plus de berbérine, qui se trouve alors dans le phelloderme.

La proportion d'alcaloïde est d'autant plus considérable que la tige est plus âgée (Pl. VII).





1



2

PIAULT, del.

BONARD, sc.

*Berberis vulgaris* L. ; 1, tige ; 2, racine au début de l'action  
de l'acide sulfurique.





*Feuille.* — Dans le pétiole, la berbérine<sup>(1)</sup> est localisée dans les cellules épidermiques, parenchymateuses et libériennes. Dans le limbe, les épidermes sont riches en alcaloïde; on rencontre aussi ce dernier dans le liber des nervures secondaires et dans le parenchyme chlorophyllien.

Lorsque la feuille est verte, le bois ne renferme pas de berbérine, mais il n'en est plus de même quand la feuille est colorée en rouge. Dans ce cas, les parois des vaisseaux seraient incrustées de berbérine, et cela en quantité d'autant plus grande que la feuille est plus rouge.

*Graine.* — Toutes les cellules de l'albumen ou de l'embryon donnent des réactions intenses; toutefois, l'embryon est plus riche en alcaloïde que l'albumen.

Ces résultats ont été indiqués par L. SAUVAN, et nous avons pu constater qu'ils sont exacts. O. HERMANN avait en outre signalé la présence de berbérine dans les parois des vaisseaux du bois, dans les cellules de la moelle voisines des faisceaux et les membranes de ces cellules. ROSOLL trouve en outre la berbérine dans les fibres libériennes et ligneuses, et dans les vaisseaux du bois de la feuille.

L. SAUVAN, et nous-même, avons pu constater qu'il n'existe jamais de berbérine dans les fibres libériennes. Ces éléments sont normalement incolores, mais peu à peu, par suite de la diffusion de la berbérine, ils se teintent en jaune, et pourraient faire croire à la présence de cet alcaloïde dans les parois cellulaires. On voit très bien cette action de teinture en examinant des coupes très fines dans l'eau.

Par contre, la plupart des vaisseaux du bois sont remplis de berbérine. Nous ne l'avons pas observé dans la feuille, mais nous ne prétendons pas que cela ne puisse se produire.

#### Répartition de la Berbérine dans le *Fibraurea chloroleuca* Miers.

— La berbérine a été localisée dans le *Fibraurea chloroleuca* Miers, par HERDER<sup>(2)</sup>.

Dans les rhizomes et les racines, la berbérine se trouve dans les parois des fibres sclérenchymateuses qui avoisinent les faisceaux; on en trouve aussi dans les parois des vaisseaux, et elle cristallise dans le lumen de ces derniers<sup>(3)</sup>. Quelques cellules isolées donnent également la réaction de la berbérine, à l'intérieur des cellules et non dans leurs parois.

#### Répartition de la Berbérine dans le *Jeffersonia diphylla* Pers. —

O. HERMANN<sup>(3)</sup> a trouvé de la berbérine dans la racine et les feuilles du

1. Il serait peut-être préférable de dire un alcaloïde, car on ne peut savoir si l'on est réellement en présence de berbérine, puisque les réactions particulières de cet alcaloïde ne peuvent s'obtenir, et qu'il faut avoir recours à l'emploi de l'iode de potassium iodé, réactif général.

2. HERDER : *Loc. cit.*

3. O. HERMANN : *Loc. cit.*, 15.

*Jeffersonia diphylla* Pers., mais en moins grande quantité que dans le *Berberis vulgaris* L.

Dans la *racine*, la berbérine est contenue dans certaines cellules du parenchyme cortical, isolées les unes des autres. Leur nombre est plus élevé dans la partie extérieure voisine du liège que dans les parties plus profondes. Les membranes de certaines cellules du bois montrent une couleur jaune très intense. Le bois a la forme d'une étoile à quatre bras et les cellules du liber et du parenchyme, qui se trouvent entre les bras de la croix, ne renferment pas de berbérine. Il en est de même du centre de la racine. Les éléments du vieux bois ont leur paroi bien plus colorée que les éléments du jeune bois.

Dans le *pétiole*, la berbérine est localisée dans quelques cellules isolées du parenchyme foliaire et dans la membrane des vaisseaux du bois; l'endoderme ne renferme pas d'alcaloïdes.

## 2. — Alcaloïdes du *Chasmanthera palmata* H. Bn.

Le Colombo renferme plusieurs alcaloïdes voisins de la *Berberine* : la *Columbamine*, la *Palmatine*, et la *Jateorrhizine*.

**Méthodes de localisation et Répartition des alcaloïdes dans le *Chasmanthera palmata* H. Bn.** — O. HERMANN<sup>(1)</sup>, qui admettait, avec les pharmacologues de son époque, la présence de la berbérine dans cette racine, essaya de la localiser en employant le sulfure d'ammonium, qui donne un précipité brun dans les cellules à alcaloïdes. Mais il ne put obtenir de cristaux par l'action de l'acide azotique à 2 p. 100. Ces alcaloïdes, d'après ses recherches, se trouveraient dans les cellules du parenchyme cortical et les membranes épaissies du bois.

RUNDQUIST<sup>(2)</sup>, après avoir essayé l'*acide picrique*, le *bichlorure de mercure*, le *bichromate de potasse*, le *ferricyanure de potassium*, qui donnaient des précipités peu visibles, préfère employer l'*acide sulfurique dilué* qui amène des cristallisations dans le liber et le bois. Il a recours aussi à la solution de *phosphomolybdate d'ammoniaque*. Les coupes sont mises dans le réactif, puis retirées et lavées; on les plonge ensuite dans l'ammoniaque, on obtient de cette façon un précipité bleu dans toutes les cellules à alcaloïde. Celui-ci est surtout abondant dans la partie externe du parenchyme cortical, dans le liber, les rayons médullaires libériens et ligneux et dans le bois âgé. Pour RUNDQUIST, cet alcaloïde serait de la berbérine.

O. TUNMANN<sup>(3)</sup> a repris dans ces derniers temps la localisation des

1. O. HERMANN : *Loc. cit.*, 16.

2. C. RUNDQUIST : *Mikrochemische Untersuchung der Radix Colombo*, *Schweiz. Woch. f. Chem. u. Pharm.*, **39**, 280-282, 1901.

3. O. TUNMANN : *Beiträge zur angewandten Pflanzenmikrochemie. V. Zur Mikrochemie der Colombowurzel*, *Apot. Zeit.*, **27**, 268-270, 1912.

alcaloïdes de la racine de Colombo. Il rejette l'emploi de l'acide sulfurique utilisé par RUNDQUIST. L'acide azotique concentré donne bien dans les cellules à alcaloïdes un précipité rouge orangé, mais le nitrate de potasse et l'acide azotique dilué ne donnent de cristaux ni avec la coupe, ni avec la poudre. Il ne peut donc être question de la berbérine.

On obtient de bons résultats avec l'iodure de potassium ou de sodium en solution au 1/20. On met des coupes assez épaisses dans un verre de montre et on y ajoute le réactif de façon à bien humecter la préparation. On recouvre le verre de montre pour éviter l'évaporation. Après trente-six à quarante-huit heures, on enlève les préparations, on les lave à l'eau et on les examine dans de l'eau ou de la glycérine; on trouve deux sortes de précipités bien dissemblables : de petites boules rougeâtres et un précipité amorphe jaune pâle.

Le premier est toujours situé dans la partie externe de l'écorce, dans la zone à sclérites et dans les sclérites eux-mêmes. Dans la partie la plus interne de l'écorce, ce précipité rougeâtre fait défaut; on le retrouve seulement dans quelques cellules au voisinage du cambium, et dans les rayons médullaires de l'écorce et du bois. Si on lave les préparations à l'éther-alcool ou à l'éther acétique, et qu'on laisse la préparation plusieurs jours dans un dessiccateur, ces boules rougeâtres se transforment en sphéro-cristaux polarisant la lumière. D'après O. TUNMANN, ce serait la *Jateorrhizine*.

Le précipité jaune amorphe se trouve dans les parties les plus externes de l'écorce, dans les rayons médullaires du bois et dans quelques vaisseaux. Pour O. TUNMANN, il n'y a aucun doute que l'on soit en présence de la *Columbamine*, parce que les cellules à columbamine donnent la réaction des nitrates avec le sulfate de diphénylamine (MOLISCH); avec la *phloroglucine* (ELLRAM), ces parois fournissent également la réaction des nitrates.

O. TUNMANN croit que les membranes des sclérites renferment de la *Jateorrhizine* et les membranes des vaisseaux de la *Columbamine*, mais il n'affirme le fait que pour la racine sèche, ce qui alors n'a rien d'étonnant.

L'auteur n'a pu localiser la *Palmatine* dans des échantillons commerciaux, car la réaction à l'acétone de BAUER ne lui a pas fourni les cristaux caractéristiques que l'on obtient avec cette base comme avec la berbérine. Cependant, GADAMER et FEIST prétendent que cette réaction se fait également très bien *in vitro* avec la palmatine. Il est possible que la teneur des racines en cet alcaloïde soit très variable, car TUNMANN dit avoir obtenu une fois des cristaux feuillés avec un vieil échantillon.

Faute de matériaux frais, nous n'avons pas repris la localisation des

alcaloïdes dans la racine de Colombo, mais cette localisation sur des plantes fraîches doit être très facile, à cause de la coloration jaune des cellules à alcaloïdes.

### NYMPHÉACÉES

#### Nupharine.

La *Nupharine* est un alcaloïde peu connu, isolé par GRÜNING <sup>(1)</sup> du *Nuphar luteum* Smith. Cet auteur n'a pu l'obtenir cristallisé. Il est facilement soluble dans l'alcool, le chloroforme, l'éther, l'alcool amylique, l'acétone, mais presque insoluble dans l'éther de pétrole.

Ce corps, en solution dans l'éther, en présence d'un excès de baryte, se décompose et donne naissance à de l'aldéhyde cinnamique (GORIS et CRÉTÉ <sup>(2)</sup>).

**Méthode de localisation et Répartition de la Nupharine dans le *Nuphar luteum* Sibth. et Sm.** — M<sup>lle</sup> PIZETTI a étudié la localisation de la nupharine, au moyen de la méthode d'ERRERA, dans les organes du *Nuphar luteum* Sibth et Sm. et du *Nymphæa alba* L.

Nous avons revu la localisation de la nupharine dans la racine, la tige et la feuille du *Nuphar luteum* Sibth. et Sm. et confirmons entièrement les résultats de M<sup>lle</sup> PIZETTI <sup>(3)</sup>; nous ajouterons même que la localisation de la nupharine est d'une très grande netteté et pourrait servir d'exemple classique, avec autant de succès que celle de la colchicine.

La répartition de ce principe est la suivante :

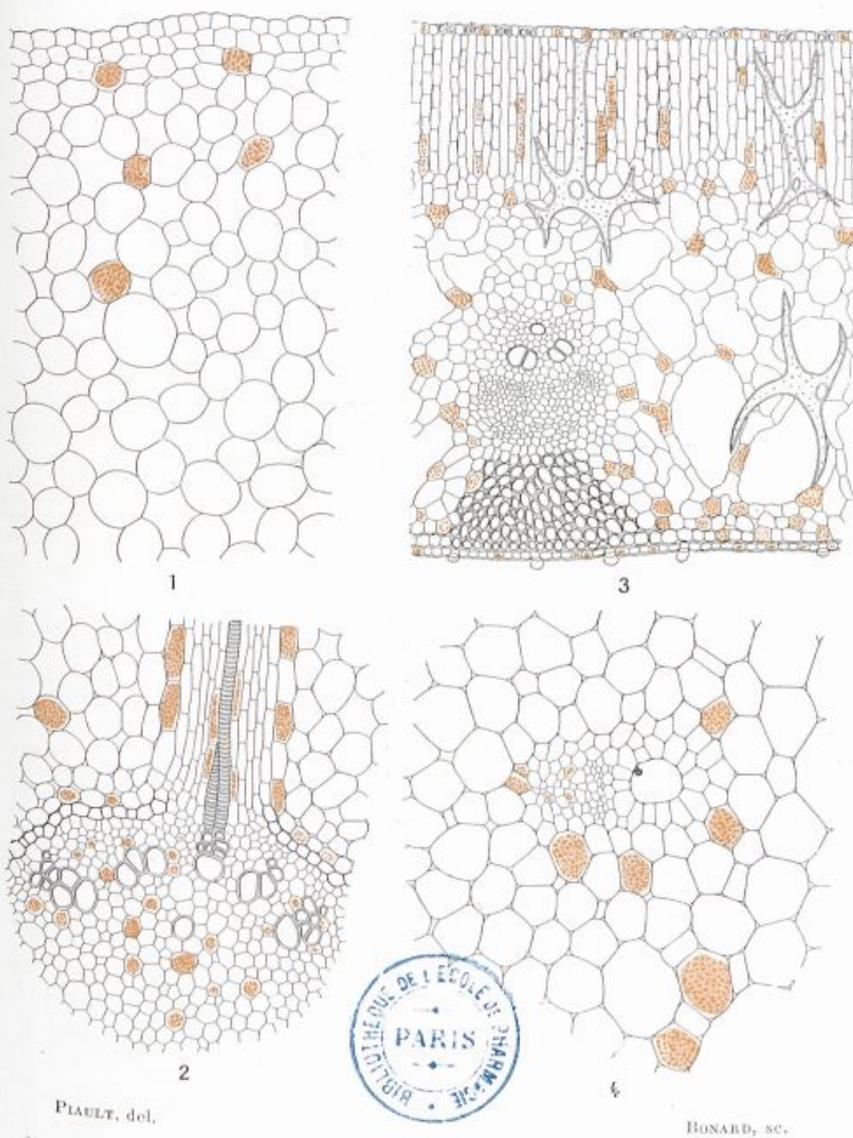
**Racine.** — Il n'y a pas d'alcaloïdes dans l'assise subéreuse externe, mais on en trouve dans quelques cellules du parenchyme cortical externe, contiguës à l'assise extérieure ou séparées de cette dernière par deux ou trois rangées de cellules.

Vers l'intérieur, il y a une forte proportion de ces cellules à alcaloïde; on les trouve dans les trabécules isolant les lacunes aquifères et principalement au point de jonction de plusieurs trabécules. Les cellules de l'assise sus-endodermique donnent une réaction très intense et très nettement localisée. Dans le cylindre central, on trouve ces éléments à alcaloïde dans la moelle et le parenchyme ligneux, accolés aux vaisseaux du bois. Enfin, il en existe dans le liber, mais il ne nous est pas possible de dire si ce sont des tubes criblés ou des cellules annexes. Il semble

1. GRÜNING : Beiträge zur Chemie der Nymphæaceen. *Arch. d. Pharm.* (3s.) 20, 589-605, 1882.

2. A. GORIS et L. CRÉTÉ : Sur la Nupharine. *Bull. d. Sc. Pharm.*, 17, 13-15, 1910.

3. M<sup>lle</sup> MARGHERITA PIZETTI : Sulla localizzazione dell' alcaloïde nel *Nuphar luteum* Sibth. et Sm. et nella *Nymphæa alba*. *Malpighia*, 18, 106-109, 1904.



PIAULT, del. BONARD, sc.  
*Nuphar luteum* Sibth et Sm. : 1, parenchyme cortical de la racine ; 2, cylindre central de la racine ; 3, feuille ; 4, faisceau libéro-ligneux du rhizome.



cependant, d'après les coupes longitudinales, que la réaction se fasse dans ces derniers éléments.

Ces racines donnent naissance à de nombreuses radicelles. L'alcaloïde accompagne le faisceau radicaire; on distingue alors très facilement, dans ces faisceaux coupés longitudinalement, les cellules sus-endodermiques, les cellules accolées aux vaisseaux, mais il est difficile d'y distinguer des cellules libériennes (Pl. VIII, 1, 2).

Ainsi donc, le cylindre central est la partie la plus riche en alcaloïde. Le principe actif va en diminuant à mesure que l'on s'approche de l'extrémité de la racine jusqu'à disparaître finalement dans le point végétatif.

*Rhizome.* — Dans le rhizome, la partie externe est la plus riche en nupharine. On la trouve dans de nombreuses cellules sous-épidermiques, dans les cellules des trabécules, dans le liber des faisceaux libéro-ligneux et au pourtour de ces mêmes faisceaux, sans que l'on puisse dire si ces éléments sont situés dans l'endoderme, parce que ce dernier n'est pas nettement distinct (Pl. VIII, 4).

*Feuille.* — Dans le limbe, l'alcaloïde est abondant et nettement localisé dans certaines cellules palissadiques et épidermiques. On en trouve également dans le tissu lacuneux et le parenchyme entourant les faisceaux (Pl. VIII, 3).

Dans la pétiole, la nupharine est plus abondante au centre qu'à la périphérie, car, dans les cellules épidermiques et collenchymateuses sous-épidermiques, on en trouve très peu. Elle est répandue dans le parenchyme lacuneux, et généralement localisée dans les cellules plus volumineuses placées au point de jonction des trabécules qui limitent les lacunes. Dans les faisceaux, la répartition est la même que dans le rhizome. L'alcaloïde diminue brusquement dès qu'en s'élevant de la base du pétiole on dépasse la partie ailée de celui-ci.

*Pédoncule floral.* — A la base du pédoncule, l'alcaloïde se trouve en abondance dans les parenchymes compact et lacuneux et dans toutes les cellules qui entourent les faisceaux fibro-vasculaires. A une très petite distance de la base du pédoncule, on ne trouve presque plus d'alcaloïde; vers le milieu, on en trouve seulement dans quelques cellules épidermiques et du parenchyme. Vers le réceptacle, l'alcaloïde redevient abondant.

*Sépales.* — On trouve de la nupharine dans tout le mésophylle, mais surtout vers la face externe; elle est absente des faisceaux. Vers la partie supérieure du sépale, qui est mince, l'alcaloïde est plus abondant, et il est exclusivement situé dans les deux épidermes et dans les cellules sous-épidermiques.

*Pétales.* — Le pétalé est très riche en alcaloïde; celui-ci est plus abondant sur la face externe, où il se trouve dans l'épiderme et les assises

sous-épidermiques, tandis qu'il fait défaut dans les cellules épidermiques inférieures.

*Étamines.* — L'alcaloïde est peu abondant dans le filet; on le trouve dans quelques cellules isolées, disséminées dans tout le mésophylle; on en trouve toutefois dans quelques cellules du faisceau libéro-ligneux, mais jamais dans l'épiderme.

*Ovaire.* — La nupharine existe en abondance dans l'ovaire; on la trouve surtout vers la périphérie, dans des cellules groupées en amas. Elle existe aussi dans le disque stigmatifère.

*Fruit.* — Dans le fruit, la disposition est identique; on ne trouve jamais la nupharine dans des cellules isolées.

*Graine.* — Elle ne renferme pas d'alcaloïde.

Lorsqu'on fait réagir les réactifs des tanins sur des coupes de racine ou de rhizome de *Nuphar luteum* Sibth. et Sm., on voit que le bichromate de potasse donne un précipité dans les cellules à alcaloïde, mais cela n'a rien d'extraordinaire, puisque nous avons pu constater, avec de la nupharine préparée par nous-même, que cette dernière précipite également par le bichromate de potasse.

Le perchlorure de fer ou le sulfate ferreux donnent une coloration noire dans les cellules à alcaloïde situées dans les faisceaux et dans les cellules situées, à l'extérieur, sous l'épiderme. Par contre, les cellules des trabécules ne se colorent pas, ou alors très mal, le réactif n'y pénétrant probablement que très difficilement. Alcaloïdes et tanin se trouvent ici situés dans les mêmes éléments cellulaires.

**Répartition de la Nupharine dans le *Nymphaea alba* L. Rhizome.** —

La répartition est analogue à ce que l'on a signalé pour le *Nuphar luteum* Sibth. et Sm.

*Feuille.* — Il en est de même pour la feuille. Dans le pétiole, la nupharine est surtout abondante à la base; à mesure que l'on s'élève, la proportion va en diminuant et, jusque près de l'insertion du limbe, on ne trouve que quelques cellules épidermiques et quelques rares cellules du parenchyme et des faisceaux qui donnent un précipité par l'iodure de potassium iodé.

*Pédoncule floral.* — La quantité de nupharine y semble faible. La précipitation n'est pas intense, sauf dans l'épiderme et les assises sous-épidermiques. Quelques cellules du parenchyme et des faisceaux donnent un précipité avec l'iodure de potassium iodé. L'alcaloïde diminue à peu de distance du point d'insertion sur le rhizome et, à mi-hauteur, on ne trouve plus d'alcaloïde que dans quelques cellules épidermiques.

*Racine.* — La répartition est ici l'inverse de celle que l'on rencontre chez *Nuphar luteum* Sibth. et Sm. L'alcaloïde est assez répandu dans le parenchyme cortical, alors qu'il n'y en a presque pas dans le cylindre central. Le point végétatif ne renferme pas non plus de principe alcaloïdique.

*Sépales.* — L'alcaloïde est très abondant dans les sépales, surtout vers la face externe. Il n'y en aurait pas dans les faisceaux.

*Pétales.* — On obtient un précipité dans quelques rares cellules de l'épiderme supérieur et du mésophylle.

*Étamines.* — Même répartition que pour le *Nuphar luteum* Sibth et Sm., avec cette différence que certaines cellules épidermiques donnent une réaction positive.

*Ovaire.* — *Fruit.* — Même répartition que dans le *Nuphar luteum* Sibth. et Sm.

*Graine.* — Elle ne renferme pas d'alcaloïdes.

## PAPAVERACÉES

### Alcaloïdes du *Papaver somniferum* L.

L'opium est un suc laiteux qui découle des capsules du *Papaver somniferum* L. Il contient un grand nombre d'alcaloïdes, dont les principaux sont : la *Morphine*, la *Codéine*, la *Narcotine*, la *Narcéine*, la *Papavérine*, la *Thébaïne*. Il n'est pas possible de songer à obtenir une localisation spéciale à chacun de ces produits dans les capsules du Pavot. Aussi considérons-nous comme inutile de donner toutes les réactions susceptibles d'être utilisées en microchimie; nous ferons toutefois exception pour la morphine et la narcotine, qui se trouvent en assez grande quantité dans l'opium (10 p. 100 en moyenne pour la morphine, 2 à 10 p. 100 pour la narcotine).

**Caractères microchimiques de la Morphine et de la Narcotine.** —

*Morphine.* — Alcaloïde peu soluble dans l'eau, assez soluble dans l'alcool, insoluble à l'état cristallisé dans l'éther, le chloroforme, soluble dans un excès de potasse, peu soluble dans l'ammoniaque.

1° La morphine précipite en brun kermès par l'iodure de potassium iodé; en rouge orangé par l'iodure de bismuth et de potassium; en blanc jaunâtre par l'iodure de mercure et de potassium; en blanc par l'iodure de cadmium et de potassium; en jaune par l'acide phosphomolybdique; en blanc par l'acide phosphotungstique.

2° Elle précipite le chlorure d'or et, très peu, le chlorure d'iridium. Elle réduit l'acide iodique, les sels d'or et le nitrate d'argent. Elle donne un précipité de bleu de Prusse dans un mélange de ferricyanure de potassium et d'un persel de fer.

3° Le perchlorure de fer la colore en bleu.

4° L'acide sulfurique additionné d'un cristal de bichromate de potasse, donne à chaud une coloration verte qui passe finalement au rouge violacé.

5° L'acide sulfurique, en présence de saccharose, donne une coloration rouge.

6° L'acide sulfurique, additionné d'aldéhyde formique, donne immédiatement une coloration violette.

7° L'acide sulfurique, additionné d'aldéhyde benzoïque, donne une coloration jaune orangé.

8° La solution sulfurique d'acide niobique la colore en rouge violet.

9° La solution sulfurique d'acide titanique la colore en rouge violacé intense.

10° La solution sulfurique de séléniate de soude produit une coloration d'un beau vert intense, disparaissant peu à peu et laissant une teinte brune.

11° La solution sulfurique de tungstate de soude la colore lentement en rose.

*Narcotine.* — Presque insoluble dans l'eau, soluble dans l'alcool, soluble dans l'éther, le chloroforme et la benzine, insoluble dans la potasse.

Les réactifs généraux qui précipitent la morphine précipitent également la narcotine. Ses réactions particulières sont les suivantes :

1° Le chlorure de palladium donne un précipité jaune ;

2° Le chlorure d'iridium, un précipité jaune d'ocre ;

3° La solution sulfurique de molybdate de soude donne une coloration verte intense, puis brune, puis rouge ;

4° La solution sulfurique de séléniate de soude donne une teinte rouge très fugace, devenant rose persistante.

Ces réactions ne peuvent toutes servir à l'étude microchimique. Les solutions sulfuriques sont très délicates à employer, à cause de leur action destructive sur les tissus ; elles ne peuvent servir que de réactifs de contrôle. D'un autre côté, les colorations dans la cellule ne sont pas semblables à celles obtenues *in vitro*. Cela tient à la présence de divers alcaloïdes dans le même élément. Les teintes sont profondément modifiées, parce qu'elles résultent du mélange de diverses teintes. Par exemple, la solution sulfurique de séléniate de soude colore la morphine en beau vert. Mais si, auparavant, on ajoute à cette solution un peu de narcotine, au lieu de la teinte verte, on obtient avec la morphine une coloration rouge orange.

**Méthodes de localisation.** — Au moyen de ces réactifs, CLAUTRIAU (1) est parvenu à révéler la présence de quelques-uns de ces alcaloïdes dans les laticifères du *Papaver somniferum* L. et, en particulier, celle de la morphine et de la narcotine.

La localisation de la morphine se fait d'une façon très nette avec

1. G. CLAUTRIAU : Recherches microchimiques sur la localisation des alcaloïdes dans le *Papaver somniferum* L. *Ann. Soc. belge de Microsc.* 12, 67-85, 1889 ; *Recueil Inst. bot. ERRERA*, 2, 237-251, 1906.

l'acide sulfurique additionné de formol. Ce réactif se prépare en mélangeant 5 gouttes de formol à 1 centimètre cube d'acide sulfurique concentré. Avec ce mélange, on obtient, au bout de peu de temps, une coloration violette très nette dans les éléments qui contiennent de la morphine.

La solution sulfurique d'acide titanique à 2 p. 100 donne une coloration rouge intense.

Le mélange de ferricyanure de potassium et de perchlorure de fer donne un précipité de bleu de Prusse.

Enfin, l'acide iodique est réduit, et l'iode mis en liberté colore le contenu des cellules à alcaloïdes.

La présence de la narcotine dans les mêmes cellules que la morphine, en particulier dans les laticifères, est très probable, presque certaine. En effet, la solution sulfurique de séléniate de soude, au lieu de donner la teinte verte de la morphine ou de la codéine, produit une coloration rouge orangé, que nous avons dit être caractéristique d'un mélange de morphine et de narcotine.

De plus, le chlorure de palladium et le chlorure d'iridium donnent des précipités jaunâtres dans le latex. Ces deux corps sont deux réactifs de la narcotine, car le chlorure de palladium ne précipite ni la morphine, ni la codéine, et le chlorure d'iridium donne un faible précipité avec ces alcaloïdes.

La présence de la Thébaine, de la Papavérine, de la Codéine, de la Narcéine, n'a pu être démontrée d'une façon certaine, aucun réactif de ces corps n'ayant donné un résultat satisfaisant. Toutefois, l'auteur croit à l'existence de ces alcaloïdes dans le latex du *Papaver somniferum*.

La localisation des alcaloïdes au moyen des réactifs sulfuriques est très difficile. Nous n'avons obtenu un résultat bien net qu'avec l'acide sulfurique ( $\text{SO}^4\text{H}^2 + \text{H}^2\text{O}$ ) additionné de sulfate de cérium. L'acide sulfurique, additionné de molybdate d'ammoniaque, de vanadate d'ammoniaque et de séléniate de soude, ne donne pas de bons résultats.

L'acide sulfurique concentré, auquel on ajoute du formol ou de l'acide titanique, permet de caractériser la morphine dans l'épiderme et les laticifères, mais ces réactifs sont d'un emploi très délicat.

La réaction par le ferricyanure de potassium et le perchlorure de fer n'est pas à recommander.

Nous préférons à toutes ces réactions l'action de l'iodure de potassium iodé, qui permet d'effectuer une très bonne localisation. Quant à séparer les alcaloïdes d'après les colorations produites par les réactifs sulfuriques, nous croyons qu'il faut être très prudent dans les conclusions que l'on peut tirer de ces réactions.

**Répartition des alcaloïdes.** — Les alcaloïdes n'existent pas exclusivement dans les laticifères et CLAUTRIAU a pu établir leur localisation. On les rencontre dans les cellules épidermiques de la capsule et, en moins

grande quantité, dans celles du pédoncule, de la tige et de la feuille. Les cellules épidermiques des stigmates sont gorgées d'alcaloïdes. Ils existent dans les poils et aussi dans les cellules basilaires de ces poils, situés surtout sur le pédoncule.

*Racine.* — Dans les cellules externes de la racine on ne trouve pas d'alcaloïdes; on peut les mettre en évidence dans les laticifères qui ont une tendance à se localiser sous l'assise subéreuse. Leur parcours entre les cellules du parenchyme est sinueux. Ils sont fortement anastomosés, et vont très loin vers l'extrémité des petites racines.

A la base de la racine, les laticifères forment un véritable réseau, mais à partir du collet, ils s'organisent en autant de séries que la tige comporte de faisceaux fibro-vasculaires.

*Tige.* — Vers les parties inférieures de la tige, la proportion d'alcaloïdes diminue graduellement dans les cellules épidermiques, pour disparaître complètement à la base de cette tige.

Sur le trajet des faisceaux, ils sont surtout localisés dans la partie libérienne, entre les tubes criblés. A l'insertion des feuilles, ils accompagnent le faisceau dans le parenchyme foliaire: ils s'y ramifient et présentent de nombreuses anastomoses.

Le point végétatif n'a donné aucune réaction alcaloïdique.

*Organes de reproduction.* — La disposition est analogue en ce qui concerne le pédoncule floral, les sépales et les pétales. Dans les étamines, on ne les trouve pas. Dans la capsule, il y a autant de zones libériennes de gros laticifères qu'il y a de faisceaux primaires, c'est-à-dire de cloisons; ils vont de la base au sommet, sans présenter d'anastomose directe entre eux.

Des faisceaux primaires partent, de distance en distance, des faisceaux secondaires, qui se ramifient à l'infini, s'anastomosant entre eux et avec les faisceaux secondaires d'autre provenance. Les laticifères suivent cette ramification.

Les graines ne renferment pas trace d'alcaloïde. Si quelques-unes donnent la réaction de la morphine, cela est accidentel et provient d'une transsudation du latex à l'intérieur, au niveau des placentas. Ainsi s'expliquent les différentes controverses entre les auteurs, les uns prétendant que la graine n'est pas narcotique, tandis que les autres affirment y avoir trouvé de la morphine.

Il est curieux de voir que le perchlorure de fer, qui donne une réaction très sensible (*in vitro*), n'a pu être employé par CLAUTRIAU pour déceler la morphine. Le perchlorure de fer provoque dans les cellules à alcaloïdes une coloration rouge intense, persistant très longtemps, surtout dans les jeunes capsules, et qui masque la coloration bleue de la morphine.

Cette réaction est très probablement imputable à l'acide méconique,

et ainsi se trouve confirmée l'opinion que la morphine existe dans le *Papaver somniferum* L. à l'état de méconate.

**Variation de l'alcaloïde pendant le cours de la végétation.** — La plantule haute de quelques centimètres ne donne aucune des réactions de la morphine. Il faut attendre qu'elle ait atteint une certaine taille pour y découvrir cet alcaloïde.

Si l'on étudie une plante ayant 4-5 feuilles assez développées, et dont la hauteur est de 10 à 15 cm., on remarque que ce jeune Pavot a déjà un latex blanchâtre, et qui contient de la morphine, alors que, dans l'épiderme de la jeune plante, la réaction est à peine sensible.

C'est lorsque le Pavot a terminé sa croissance que la quantité d'alcaloïde est le plus considérable.

Lorsque le Pavot a mûri ses graines, il dépérit lentement; les feuilles se fanent, la capsule devient jaune brun. Le latex disparaît et, avec lui, les alcaloïdes. C'est dans les cellules épidermiques de la capsule que les alcaloïdes persistent le plus longtemps, mais ils finissent aussi par disparaître.

## FUMARIACÉES

### Corydaline.

La *Corydaline* existe dans les différentes espèces du genre *Corydalis*, à côté de nombreux autres alcaloïdes : *Corybulbine*, *Bulbocapnine*, *Corytubérine*, *Corycanine*, *Corydine*. C'est un composé cristallisé, insoluble dans l'eau et les alcalis, très soluble dans l'éther et le chloroforme, peu dans l'alcool.

**Caractères microchimiques et Méthodes de localisation.** — ZOPF (\*) a étudié la localisation de ce composé, au moyen des réactions suivantes, dans les *C. cava* Schw. et Korth., *C. lutea* DC., *C. ochroleuca* Koch, *C. pumila* Koch, *C. Halleri* Willd.

1° L'ammoniaque : précipité granuleux, brun foncé, dans les cellules où se trouve la corydaline ;

2° L'acide picrique : léger précipité, facile à observer ;

3° L'iodure de potassium iodé : précipité rouge brun foncé.

**Répartition de l'alcaloïde dans le *Corydalis lutea* DC.** — D'après l'auteur, la corydaline se trouverait exclusivement localisée dans de grandes cellules spéciales, laticifères à latex coloré, répandues dans tous les organes de la plante; les tubercules et parties souterraines seraient la partie la plus riche en alcaloïde. Ce dernier existerait aussi en très petite quantité dans les cellules ordinaires des tissus.

1. ZOPF : Ueber die Gerbstoff und Anthocyan Behälter der Fumariaceen und einiger anderen Pflanzen. *Bibliotheca Botanica*, 2, 3 pl. col. 40 p., 1886.

Nous avons vérifié la localisation de la corydaline dans le *C. lutea* DC., en suivant les indications de ZOFF, et pouvons confirmer en tous points les résultats de cet auteur.

*Racine. Rhizome.* — Lorsqu'on fait une coupe de *Corydalis* et qu'on l'examine dans l'eau, on voit des éléments colorés en jaune clair, transparents. Si l'on fait arriver sous la lamelle de l'ammoniaque diluée de trois parties d'eau, on voit tout d'abord se faire immédiatement dans des cellules que l'on ne distinguait pas, — probablement parce que le contenu en était trop peu coloré, — un précipité granuleux brunâtre; puis, peu à peu, les cellules à contenu jaune perdent leur transparence et

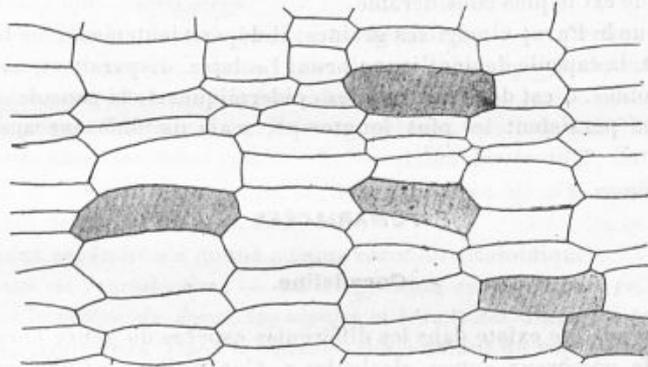


FIG. 2. — Laticifères de la racine de *Corydalis lutea* DC.  
(coupe longitudinale tangentielle).

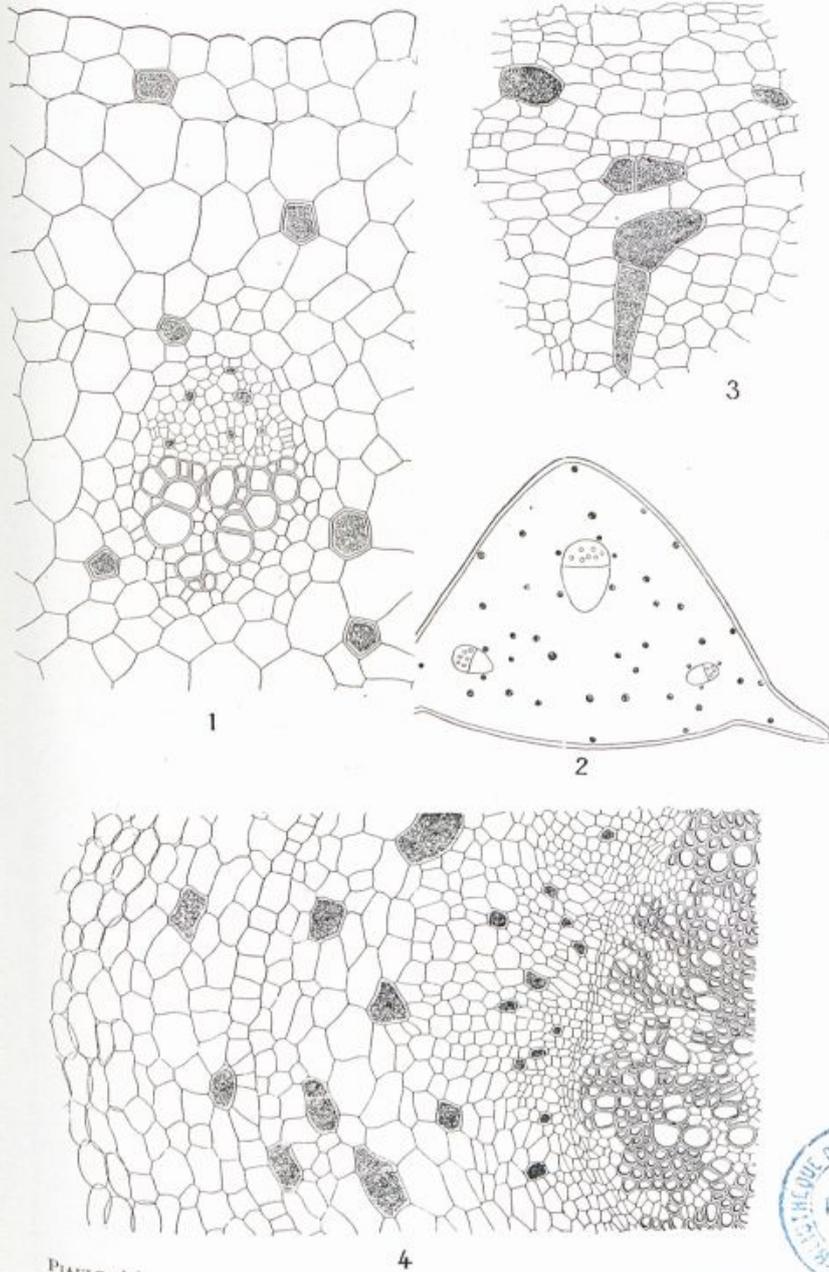
il s'y forme également un précipité. La réaction est d'autant plus rapide que la solution est plus concentrée (Pl. IX, 3, 4).

Avec le bicarbonate de sodium au 1/10, on constate une réaction analogue; certains éléments donnent immédiatement un précipité granuleux; dans les cellules qui sont colorées en jaune, le contenu se contracte en boule au milieu de la cellule, puis, peu à peu, la transparence disparaît et finalement il se forme un précipité granuleux. On suit facilement ces modifications sous le microscope.

On peut obtenir une réaction analogue en montant les coupes dans une solution de chlorure de sodium au 1/20, et en faisant arriver ensuite la solution ammoniacale sous la lamelle.

Ces précipités disparaissent à la longue; l'alcaloïde est probablement soluble dans un excès d'eau ou d'alcali.

Par l'action de ces deux réactifs, il n'y a que les laticifères qui donnent ainsi un précipité très net. Il n'en est plus de même avec l'iodure de potassium iodé. Si l'on monte une coupe dans l'eau et si l'on fait arriver



PIAULT, del.

BONARD, sc.

*Corydalis lutea* DC. : 1, faisceau libéro-ligneux du pétiole ; 2, coupe schématique du pétiole ; 3, parenchyme cortical et région endodermique de la racine ; 4, coupe transversale de la racine.





l'iodure de potassium iodé sous la lamelle, on voit ces mêmes laticifères donner à la longue un précipité rouge brun foncé, en même temps qu'un précipité nuageux, brun kermès, flotte sur toute la coupe. On peut cependant constater que certaines cellules situées dans le parenchyme cortical, au-dessus de l'endoderme, et dans le parenchyme libérien, renferment un précipité granuleux, rouge kermès, mais bien moins intense que dans les laticifères.

Le bichromate de potasse donne également un précipité granuleux,

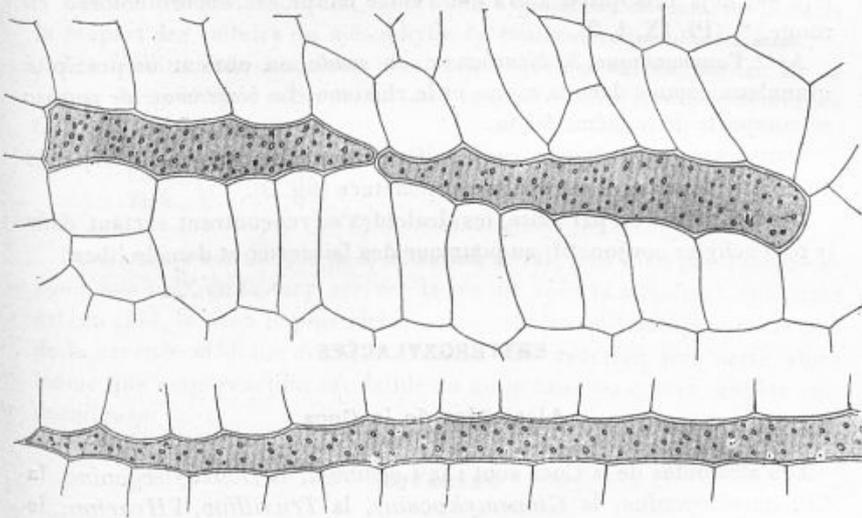


FIG. 3. — Laticifères de la tige de *Corydalis lutea* DC.  
(coupe longitudinale tangentielle).

abondant dans les laticifères et beaucoup moins intense dans les autres cellules du parenchyme.

L'acide picrique ne nous a pas donné de bons résultats; aussi, nous ne recommandons pas son emploi.

Les organes souterrains ne renferment pas de tanin, car le perchlorure de fer, le sulfate ferreux ne donnent aucun précipité.

Ces laticifères des Fumariacées sont formés de cellules isolées, ou placées bout à bout, sans trace de résorption des parois transversales. Elles sont, dans les organes souterrains, presque isodiamétriques, un peu plus longues que larges, et leurs parois ne sont pas épaissies (fig. 2).

Dans la racine et le rhizome, les laticifères se répartissent de la façon suivante: dans le parenchyme cortical, dans certaines cellules immédiatement adossées à l'endoderme, dans le péricycle et, en grande quantité, dans le liber secondaire.

*Tige. Pétiole.* — Pour la tige et le pétiole, il ne faut pas songer à faire

des coupes transversales, car le contenu s'écoule immédiatement au dehors. Il faut donc faire des coupes longitudinales, que l'on monte dans l'eau, et faire arriver les réactifs sous la lamelle. Dans les organes aériens, la réaction par l'iodure de potassium iodé est bien plus nette que dans la racine, car les tissus environnants, ne renfermant pas de traces d'alcaloïdes, ne gênent pas l'observation. On voit alors, au fur et à mesure que le réactif pénètre dans les cellules, le contenu du laticifère devenir granuleux, de couleur marron; parfois même la moitié du laticifère est déjà précipitée alors que l'autre moitié est encore colorée en rouge<sup>(1)</sup> (Pl. IX, 1, 2).

Avec l'ammoniaque, le bicarbonate de soude, on obtient un précipité granuleux comme dans la racine et le rhizome. Le bichromate de potasse se comporte de la même façon.

Dans les organes aériens, ces laticifères sont allongés, parfois terminés en pointe; leur paroi est épaisse et ponctuée (fig. 3).

Les laticifères et, par suite, les alcaloïdes se rencontrent surtout dans le parenchyme conjonctif, au pourtour des faisceaux et dans le liber.

### ERYTHROXYLACÉES

#### Alcaloïdes de la Coca.

Les alcaloïdes de la Coca sont : la *Cocaïne-d*, la *Benzoylécgonine*, la *Cinnamylécgonine*, la *Cinnamylcocaïne*, la *Truxilline*, l'*Hygrine*; le plus important de tous est la *Cocaïne*.

C'est une base soluble dans 700 parties d'eau, très soluble dans l'alcool et l'éther, et possédant peu de réactions colorées.

Elle précipite par la plupart des réactifs des alcaloïdes. Elle donne, en solution chlorhydrique, avec l'acide chromique ou le bichromate de potasse, un précipité lamelleux orangé, peu soluble, de chromate de cocaïne.

Une solution aqueuse de cocaïne, additionnée de plusieurs fois son volume d'eau de chlore et de 2 à 3 gouttes d'une solution de chlorure de palladium à 5 p. 100, donne un précipité rouge, que décompose l'eau en excès, mais insoluble dans l'alcool et l'éther.

**Méthodes de localisation et Répartition des alcaloïdes dans l'*Erythroxylon Coca* Lam.** — La répartition des alcaloïdes dans la Coca a été faite par O. TUNMANN et JENZER<sup>(2)</sup> au moyen de l'iodure de potassium iodé,

1. Le latex des organes aériens est rouge.

2. O. TUNMANN et JENZER : Pharmakognostische Untersuchungen über *Pilocarpus pennatifolius* Lem. und *Erythroxylon Coca* Lam. mit besonderer Berücksichtigung ihrer Alkaloide. *Schweiz. Woch. f. Chem. u. Pharm.*, 48, 17-24, 1910.

de l'iodure de bismuth et de potassium, et de l'iodure de mercure et de potassium.

*Feuille.* — Dans le limbe, l'alcaloïde se trouve surtout dans les cellules épidermiques, plus particulièrement dans l'épiderme supérieur et dans quelques cellules du parenchyme des nervures secondaires. Dans la nervure principale et le pétiole, les épidermes et les assises sous-épidermiques, les cellules du parenchyme avoisinant les rayons médullaires, les cellules du périderme sont les tissus les plus riches en alcaloïdes.

Les cellules palissadiques, les cellules à oxalate de calcium, les poils et la plupart des cellules du mésophylle ne renferment pas d'alcaloïdes.

Les feuilles sont beaucoup plus riches que les autres parties de la plante en principes actifs, ainsi que le prouvent les dosages chimiques faits par les auteurs.

Feuille . . . . .	1,22 p. 100
Tige . . . . .	0,35 p. 100

Nous avons vérifié que la localisation se fait très bien par l'iodure de potassium iodé, en faisant arriver le réactif sous la lamelle. L'épiderme est, en effet, le tissu le plus riche, et les cellules épidermiques au-dessus de la nervure médiane donnent toujours une réaction très nette, alors même que cette réaction est faible ou nulle dans les autres cellules épidermiques.

## RUTACÉES

### 1. — Alcaloïdes du *Peganum Harmala* L.

Les semences du *Peganum Harmala* L. contiennent deux alcaloïdes : l'*Harmaline*  $C^{11}H^{14}Az^2O$ , découverte par GÆBEL en 1841, et l'*Harmine*, isolée en 1847 par FRITZSCHE.

**Caractères microchimiques.** — Les caractères de ces alcaloïdes ont été donnés par H. BARTH<sup>(1)</sup> qui a opéré sur le mélange des deux alcaloïdes, isolé par lui de la graine. Ces réactions sont les suivantes :

1° L'iodure de potassium iodé : précipité brun, qui cristallise après quelques instants ;

2° L'iodure de potassium et de bismuth : masses cristallines de couleur claire ;

3° L'iodure de potassium et de mercure : précipité blanc abondant, non cristallisable. Le précipité, lavé à l'eau et traité par l'acide sulfurique, donne des cristaux aiguillés, rouges ;

1. H. BARTH : Studien über den mikrochem. Nachweis von Alkaloiden in Arzneidrogen. *Arch. d. Pharm.*, 236, 354-367, 1898. *Dissert. Zurich*, 21-25, 1898.

4° L'acide phosphotungstique ou phosphomolybdique : précipité jaune amorphe, qui devient bleu;

5° L'acide picrique : précipité jaune qui cristallise facilement;

6° Le chlorure de platine : abondant précipité jaune, formant de longs cristaux;

7° Le platinocyanure de potassium : cristaux blancs;

8° Le chlorure d'or : abondant précipité jaune, devenant brun, cristallin;

9° Le ferrocyanure de potassium : précipité jaune, se transformant en petits cristaux qui se rassemblent en fagots;

10° Le ferricyanure de potassium : précipité rouge brique;

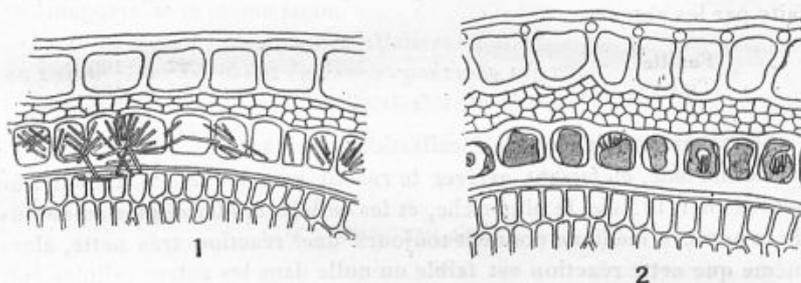


FIG. 4. — Localisation de l'Harmatine dans le *Peganum Harmala* L., d'après H. BARTH; 1, action de l'acide chlorhydrique concentré; 2, action de la solution de soude.

11° Le bichromate de potassium : cristaux jaunes se dissolvant difficilement dans l'eau;

12° L'eau de brome : cristaux très fins;

13° La solution de soude, l'ammoniaque : coloration rosée;

14° Les acides minéraux : donnent une solution jaune, puis des sels cristallisés, difficilement solubles dans l'eau.

Les acides sulfovanadique, sulfosélénique, sulfocérique, ne donnent aucune réaction spéciale.

**Méthodes de localisation.** — Les meilleurs résultats sont fournis par l'iodure de potassium iodé. La solution de soude donne des gouttelettes colorées en jaune, qui prennent bientôt une couleur brune et laissent voir des cristaux sur leurs bords. L'acide chlorhydrique concentré produit une coloration jaune; après quelques secondes, il se forme de superbes cristaux prismatiques dans les cellules. Si on emploie l'acide chlorhydrique dilué, la formation des cristaux est plus lente (fig. 4).

Les réactifs indiqués plus haut peuvent d'ailleurs être tous employés, car, d'après BARTH, le *Peganum Harmala* L. est le meilleur sujet d'expérimentation pour les recherches microchimiques.

**Répartition des alcaloïdes.** — L'alcaloïde se trouve exclusivement dans les trois couches du tégument de la graine qui, d'après le dessin de l'auteur, représentent les assises internes du tégument interne.

## 2. — Alcaloïdes des *Pilocarpus*.

Le *Jaborandi* renferme plusieurs alcaloïdes : la *Pilocarpine*, la *Pilocarpidine*, la *Jaborine* et la *Pilosine* découverte tout récemment par LEE PYMAN et par LÉGER qui l'appelle *Carpiline*.

La *Pilocarpine* est un alcaloïde liquide, peu soluble dans l'eau, soluble dans l'alcool et l'éther.

La *Pilosine* est assez soluble dans l'eau chaude, soluble dans le chloroforme, le benzène, peu soluble dans l'éther. C'est une base faible. Chauffée en tube scellé à 140°, elle se dédouble en aldéhyde benzoïque et en deux bases encore peu connues.

**Méthode de localisation des alcaloïdes dans le *P. pennatifolius* Lem.** — La répartition des alcaloïdes dans les *Pilocarpus* a été faite par O. TUNMANN (1) sur le *P. pennatifolius* Lem. cultivé au jardin botanique de Berne, puis sur le *P. Jaborandi* Holmes, du commerce.

Il a employé le chlorure de zinc iodé, l'iodure de mercure et de potassium, l'iodure de potassium iodé, l'iodure de bismuth et de potassium et la précipitation de l'alcaloïde à l'état de nitrate de pilocarpine par un traitement convenable à l'acide nitrique, puis à l'alcool. Pour effectuer cette dernière réaction, on laisse les préparations en contact pendant quelques instants avec l'acide azotique dilué au 1/5, on les met ensuite dans l'alcool absolu. Les cellules à alcaloïde laissent voir un précipité plus souvent amorphe, granuleux, de couleur grisâtre. Cette réaction demande quelques tâtonnements afin de bien déterminer les conditions d'une bonne localisation ; la durée du contact des préparations avec l'acide azotique est le point le plus délicat.

L'iodure de mercure et de potassium donne un précipité gris amorphe facilement soluble ; il en est de même des précipités obtenus par l'iodure de potassium iodé, employé de préférence en milieu faiblement acide, et par l'iodure de bismuth et de potassium.

Les réactifs de HERDER (solution d'iodure de mercure et de baryum ou de cæsium dans l'hydrate de chloral) ne donnent pas de bons résultats ; il en est de même de l'acide picrique, du tanin, du chlorure de platine, proposés par différents auteurs pour la caractérisation *in vitro* de la pilocarpine.

1. O. TUNMANN : Ueber den mikrochemischen alkaloidnachweis speziell in den Blättern von *Pilocarpus pennatifolius* Lem. *Schweiz. Woch. f. Chem. und Pharm.*, 47, 177-183, 1909.

**Répartition des alcaloïdes.** — Les alcaloïdes du Jaborandi se rencontrent :

*Feuille.* — Dans les épidermes, plus particulièrement dans l'épiderme supérieur; dans les cellules du mésophylle, et principalement dans celles qui sont contiguës à l'épiderme inférieur; on rencontre aussi les alcaloïdes dans les cellules qui bordent les poches sécrétrices. Les cellules palissadiques, les cellules à oxalate de calcium, les poils sécréteurs, et la plupart des cellules du mésophylle, ne renferment pas d'alcaloïdes.

Dans la nervure médiane et le pétiole, on trouve le principe actif dans les épidermes, et surtout dans les deux rangées de cellules sous-épidermiques. Les cellules des parenchymes qui touchent aux rayons médullaires, et quelques cellules du périderme ou de la moelle sont très riches en alcaloïdes. Les fibres libériennes et les vaisseaux ne donnent aucune réaction alcaloïdique. Dans les produits de sécrétion des poches schizogènes, il y aurait un peu d'alcaloïde.

Dans les nervures secondaires, quelques cellules du parenchyme donnent la réaction des alcaloïdes.

En coupe longitudinale, les cellules à alcaloïdes sont disposées en files comprenant parfois dix-huit cellules.

Ces résultats ne concordent pas avec ceux donnés antérieurement par BÖLLING<sup>(1)</sup>; aussi TUNMANN et JENZER<sup>(2)</sup> les ont-ils contrôlés par des dosages quantitatifs. Par des coupes longitudinales, ils ont pu détacher l'épiderme supérieur de la partie sous-jacente, et ont constaté qu'il renfermait une forte proportion d'alcaloïde :

	ÉPIDERME supérieur	AUTRES TISSUS
<i>P. pennatifolius</i> Lem. cultivé à Berne en serre, mais ne fleurissant pas . . .	0,98 p. 100	1,04 p. 100
<i>P. pennatifolius</i> Lem. cultivé à la Mor- tola en pleine terre et fleurissant . . .	0,51	0,28

Dans les tiges âgées, BÖLLING avait mis en doute la présence d'alcaloïdes. O. TUNMANN a pu infirmer en partie cette conclusion. Les tiges du *P. pennatifolius* cultivé en serre à Berne donnent nettement la réaction des alcaloïdes, tandis que celles du *P. pennatifolius* cultivé en pleine terre à la Mortola, n'en renferment pas. La plante de Berne provient

1. BÖLLING : Beiträge zur Kenntnis einiger alkaloidhaltiger Pflanzen mit Berücksichtigung ihrer Anatomie und des mikrochemischen Nachweises ihrer Alkaloide. *Dissert.* Erlangen, 1900.

2. O. TUNMANN et R. JENZER : Pharmakognostische Untersuchung über *Pilocarpus pennatifolius* Lem. und *Erythroxylon Coca* Lam. mit besonderer Berücksichtigung ihrer Alkaloide. *Schweiz. Woch. f. Chem. u. Pharm.*, 48, 17-24, 1910.

cependant de celle cultivée en Italie, mais nous venons de voir que la proportion d'alcaloïdes est bien plus élevée dans la première.

TUNMANN et JENZER ont pu de même infirmer l'opinion de BÖLLING, qui prétendait que la tige jeune était aussi riche que les feuilles; ils ont trouvé : pour les feuilles, 0,25 p. 100, et pour les tiges, 0,18 p. 100.

Les conclusions de O. TUNMANN concernant la présence d'alcaloïdes dans le *Pilocarpus* sont exactes, et nous avons pu obtenir la précipitation des alcaloïdes dans les cellules du parenchyme cortical de tiges de 1 centimètre de diamètre. L'échantillon qui a servi à nos recherches provient des *Pilocarpus* des serres de l'École de pharmacie, où ces plantes fleurissent et fructifient. La réaction dans les tiges et les feuilles était peu intense et disparaissait par suite assez rapidement, mais la présence d'alcaloïde dans les épidermes, les cellules du mésophylle et du parenchyme de la nervure n'est pas douteuse.

## LÉGUMINEUSES

### 1. — Spartéine.

La *Spartéine* est un alcaloïde liquide, retiré du *Sarothamnus scoparius* Koch. Elle est peu soluble dans l'eau, soluble dans l'alcool, dans l'éther en toutes proportions, dans le chloroforme, le sulfure de carbone, insoluble dans la benzine et la ligroïne.

Sa formule est  $C^{10}H^{16}Az^7$ . Sa composition est actuellement connue depuis les intéressantes recherches de MOUREU et VALEUR.

**Caractères microchimiques.** — 1° La solution étherée d'iode donne de belles aiguilles vertes de periodure de spartéine;

2° Le *sulphydrate d'ammoniaque* persulfuré communique à la spartéine ou à ses sels une coloration rouge orangé persistante;

3° L'*iodure de potassium iodé* donne un précipité brun kermès abondant;

4° L'*iodure de mercure et de potassium* : un précipité blanc soluble dans l'hyposulfite de soude;

5° L'*iodure de bismuth et de potassium* : un précipité rouge;

6° Le *phosphomolybdate de soude* : un précipité blanc cailleboté;

7° Le *tanin* : un précipité blanc;

8° L'*eau iodée* ou *bromée* : un précipité rouge brique, soluble dans l'hyposulfite de soude;

9° L'*acide sulfurique* additionné de *bichromate de potasse* donne une coloration verte intense avec la spartéine;

10° Le réactif de MANDELIN donne une coloration verte;

11° L'*acide sulfurique* additionné de *séléniate de sodium* ou de *molyb-*



ate d'ammonium : une coloration rose devenant rouge avec le premier réactif.

**Méthodes de localisation.** — La localisation de cet alcaloïde dans le *Sarothamnus scoparius* L. a été faite par AUDEMARD<sup>(1)</sup> et confirmée par A. JACQUEMIN<sup>(2)</sup>. Ils employaient le réactif de BOUCHARDAT avant et après action de l'alcool tartrique sur les préparations. Les résultats ont été contrôlés par l'iodure de mercure et de potassium et le phosphomolybdate de soude.

Enfin, en faisant agir sur des coupes une solution d'acide sulfurique à 5 p. 100, et en suivant la réaction sous le microscope, les auteurs purent assister à la production de petits cristaux de sulfate de spartéine. La réaction met quinze minutes à se produire. Si, ensuite, on fait arriver le réactif de BOUCHARDAT sous la lamelle, on constate la formation d'un précipité aux endroits où se trouvait la spartéine.

**Répartition de la Spartéine dans le *Sarothamnus*.** — *Racine.* — La racine est pauvre en alcaloïde ; elle est, en tout cas, beaucoup moins riche que la tige.

Dans les racines primaires, l'alcaloïde se trouve dans les cellules du parenchyme cortical voisines du cylindre central et dans l'endoderme. Dans les racines âgées, les réactions se font dans le liber et quelques cellules du parenchyme cortical, vers l'extérieur. Le cylindre central et les rayons médullaires en sont absolument privés. Plus les racines sont âgées, plus elles sont pauvres en alcaloïde, et plus ce dernier paraît gagner la périphérie aux dépens du liber et de l'endoderme.

Le point végétatif et la coiffe de la racine, surtout vers la périphérie, sont très riches en principe actif.

*Tige.* — Dans les tiges jeunes, l'alcaloïde se trouve sous l'épiderme, dans le parenchyme cortical (chlorophyllien ou non), le liber et la moelle. Le liber paraît très riche en principe actif. Le bois n'en contient pas.

Dans les tiges possédant un liège en voie de formation, les alcaloïdes ont presque disparu de l'épiderme, mais la localisation reste la même pour les autres tissus.

Avec les tiges très âgées, l'alcaloïde a disparu complètement de la moelle ; on le retrouve dans le liber, mais en plus grande quantité dans le parenchyme cortical.

Le point végétatif de la tige est très riche en base alcaloïdique, principalement dans l'épiderme et les couches sous-épidermiques.

*Feuille.* — L'alcaloïde est surtout abondant dans les deux épidermes,

1. A. AUDEMARD : Recherches sur la localisation des alcaloïdes dans les Genêts. *Th. Doct. Un. Pharm.*, Montpellier, 29, 1902.

2. A. JACQUEMIN : Sur la localisation des alcaloïdes dans les Légumineuses. *Ann. Soc. roy. des Sc. méd. et nat. de Bruxelles*, 14, 41-84, 2 pl., 1905. *Recueil Inst. bot. ERRERA*, 6, 257-297, 1906.

dans l'assise palissadique; dans le parenchyme lacuneux, quelques cellules, disposées irrégulièrement, donnent une réaction positive. Ces cellules se trouvent de préférence autour des nervures. Dans le faisceau libéro-ligneux, l'alcaloïde se trouve exclusivement dans le liber.

D'après JACQUEMIN, le tissu palissadique renfermerait aussi de l'alcaloïde.

*Organes de reproduction.* — Dans le *calice*, le réactif de BOUCHARDAT donne un précipité dans les deux épidermes, surtout dans l'épiderme de la face interne (appliquée contre la corolle), et autour des faisceaux libéro-ligneux. Dans la *corolle*, l'étendard est la pièce qui paraît contenir le plus d'alcaloïde; on le rencontre dans beaucoup de cellules épidermiques, dans quelques rares cellules à l'intérieur du parenchyme, au voisinage des épidermes. Dans la *gousse*, l'alcaloïde est situé principalement dans les épidermes, particulièrement dans l'épiderme extérieur, et dans quelques cellules du parenchyme au voisinage des faisceaux.

Dans la *graine*, les réactions se produisent dans les cotylédons, mais d'une façon plus intense dans les épidermes et les cellules immédiatement au-dessous. Dans la radicule, la répartition est analogue. Les téguments ne renferment pas d'alcaloïde.

Dans les graines en voie de formation, chez lesquelles l'albumen n'est pas encore résorbé, l'alcaloïde est répandu dans presque toutes les cellules de celui-ci.

Les observations d'AUDEMARD sont exactes. La réaction par l'*iodure de potassium iodé* est très nette dans le *Sarothamnus*. Toutefois, il est préférable de monter les coupes dans un peu d'eau et de faire arriver le réactif sous la lamelle. On voit ainsi beaucoup mieux la formation du précipité.

Nous n'avons pas contrôlé la formation de cristaux de sulfate de spartéine par addition d'acide sulfurique à 5 p. 100.

AUDEMARD<sup>(1)</sup> a étudié la répartition des alcaloïdes dans d'autres plantes du même groupe de Légumineuses, en particulier des genres *Genista* et *Spartium*. Nous ne connaissons pas la nature des alcaloïdes qui se trouvent dans ces végétaux, mais leur répartition est identique à ce que nous venons de signaler pour le *Sarothamnus scoparius* Koch. Les espèces étudiées sont les suivantes: *Spartium junceum* L., *Genista tinctoria* L., *Genista candicans* L., *Genista pilosa* L., *Retama monosperma* Boiss., *Retama sphaerocarpa* Boiss.

Les *Genista Scorpius* DC., *Genista germanica* L., *Genista horrida* DC.,

1. A. AUDEMARD: *Loc. cit.*

A. AUDEMARD: Présence et localisation des alcaloïdes dans les organes floraux du *Spartium junceum* L. *Bull. Pharm. Sud-Est*, 7, 40-42, 1902.

ne renfermeraient pas d'alcaloïdes, d'après les recherches microchimiques d'AUDEMARD.

Le *Genista canariensis* L. a été étudié par JACQUEMIN; il renferme également de l'alcaloïde.

## 2. — Cytisine.

La *Cytisine* a été découverte en 1865 par HUSEMANN et MARMÉ, dans les graines du faux ébénier (*Cytisus Laburnum* L.). On la rencontre aussi dans les graines des autres Cytises, dans celles du *Genista monosperma* Lam., du *Baptisia tinctoria* R. Br., du *Baptisia australis* R. Br., du *Sophora tomentosa* L., et aussi de l'*Ulex europæus* L. Sa formule est  $C^{14}H^{14}Az^2O$ . Elle est soluble dans l'eau, l'alcool et le chloroforme, très peu soluble dans l'éther et la benzine, insoluble dans l'éther de pétrole et le sulfure de carbone.

Son point de fusion est 152-153°; elle est sublimable dans le vide. Elle fournit deux séries de sels bien caractérisés et cristallisant parfaitement.

Distillée sur la chaux sodée, elle fournit une base appartenant à la série pyridique.

**Réactions.** — Les réactifs susceptibles d'être utilisées en microchimie sont :

1° L'iodure de potassium iodé qui, en solution étendue, donne un précipité rouge brun, granuleux, soluble dans l'hyposulfite de soude.

2° L'iodure de bismuth et de potassium, qui donne un précipité blanc jaunâtre.

3° L'acide picrique : précipité jaune. Ce réactif donne, après un bref délai, des groupes de cristaux écaillés et foliacés (mais non en forme d'aiguilles) (GUÉRIN), de couleur jaune d'or (ROSOLL).

4° Le perchlorure de fer : coloration jaune orange, si l'alcaloïde est en quantité suffisante.

5° Une solution de la base ou de ses sels donne, par les sels ferriques, une coloration rouge qui disparaît par l'addition d'eau oxygénée; la liqueur décolorée passe au bleu quand on la chauffe au bain-marie.

Cette réaction permettrait de caractériser 0,00005 de la base (DE MOER).

6° L'eau bromée communique à la cytisine une coloration orangée, qui passe au rouge par la chaleur. Cette réaction est peu sensible.

7° L'acide phosphotungstique donne un précipité blanc amorphe.

8° L'acide sulfurique concentré donne une coloration jaune rouge; mais si on ajoute alors un petit cristal de bichromate de potasse, la coloration passe successivement du jaune au brun et, finalement, au bout de dix à quinze minutes, au vert. Cette dernière couleur persiste quelque temps.

**Méthodes de localisation.** — La localisation de l'*anagyrine* a été

étudiée par ROSOLL (1) dans l'*Anagyris foetida* L., par P. GUÉRIN (2) dans le *C. Laburnum* L., puis étendue aux espèces *C. alpinus* Lam., *C. capitatus* Scop., *C. sessilifolius* L., *C. Weldenii* Vis., *C. Adami* Poit., etc.

En ce qui concerne le *C. Laburnum* L., les résultats de ces auteurs sont concordants. Ils ont été confirmés depuis par JACQUEMIN (3), VAN DYCK (4) et VAN GULICK (5).

La méthode employée est celle d'ERRERA, contrôlée par la réaction au perchlorure de fer et par l'examen des coupes traitées par le même réactif après séjour dans l'alcool tartrique.

**Répartition de la Cytisine dans le *Cytisus Laburnum* L.** — Les résultats de GUÉRIN et de ROSOLL concordent en ce qui concerne le *C. Laburnum* L.

*Racine.* — Dans les racines, au début de la germination, l'alcaloïde se rencontre dans les cellules du parenchyme cortical. Le précipité s'observe également dans les cellules de l'endoderme et du péricycle. L'alcaloïde semble même s'accumuler de préférence au pourtour du cylindre central. Il existe également dans le liber et la moelle, mais sa caractérisation dans les éléments de ces tissus, ici peu développés, est délicate.

Dans la racine plus âgée, l'alcaloïde est abondant dans tout le parenchyme cortical, les rayons médullaires; on l'observe aussi dans le liber.

Les couches les plus externes de l'écorce, situées au-dessous du liège, paraissent les plus riches en alcaloïde.

*Tige.* — La cytisine se localise dans l'épiderme, le parenchyme cortical et la moelle, et dans quelques éléments du liber. L'alcaloïde a toujours tendance à gagner la périphérie, et cette émigration sera complète dans les tiges âgées.

Lorsque l'assise subéro-phellodermique a pris naissance, on n'obtient plus les réactions de la cytisine dans l'épiderme. A ce moment, l'alcaloïde est surtout abondant dans les assises phellodermiques et dans le parenchyme cortical. Les rayons médullaires et quelques cellules de la moelle donnent également un précipité brun kermès par l'iodure de potassium iodé.

*Feuille.* — Dans la nervure médiane, l'alcaloïde se localise surtout

1. ROSOLL : Ueber den mikrochemischen Nachweis der Glycoside und der Alkaloïde in den vegetab. Geweben. *Jahresb. der niederöster. Landesrealgymnasiums zu Stockerau*, 25, 1889-1890.

2. P. GUÉRIN : Recherches sur la localisation de l'anagyriine et de la cytisine. *Bull. Soc. bot. France*, 42, 428, 1895. — Recherches sur la localisation de l'anagyriine et de la cytisine. *Th. pharm.*, Paris 1895.

3. A. JACQUEMIN : *Loc. cit.*

4. VAN DYCK : Phytochemische onderzoekingen over alkaloiden in verband met het Kiemen. *Proefschrift*, Utrecht, 1900.

5. VAN GULICK : De physiologische beteeknis van het alkaloid in den Goudenregen. *Proefschrift*, Leyde, 1901.

dans les cellules épidermiques et dans le parenchyme de la nervure médiane. Le liber et les rayons médullaires en renferment également.

Dans le limbe, l'épiderme est toujours le lieu de prédilection de la cytosine; dans le tissu assimilateur, la présence de la chlorophylle, qui masque l'intensité des précipités et des colorations, rend difficile leur examen. GUÉRIN n'a pas constaté la présence d'alcaloïde dans les poils épidermiques, contrairement à l'assertion de ROSOLL.

*Fleur.* — *Calice* : dans les deux épidermes et le parenchyme; l'épiderme externe donne généralement une réaction plus intense.

*Corolle* : épidermes interne et externe, et parenchyme, surtout à la base des pétales. L'étendard semble renfermer plus d'alcaloïde que la carène et les ailes.

*Fruit.* — L'alcaloïde, abondant au début dans les feuilles carpellaires, y disparaît ensuite; nous le retrouverons dans la graine, où il semble se concentrer.

La jeune gousse renferme l'alcaloïde en abondance dans l'épicarpe et le mésocarpe. A un âge plus avancé on n'en trouve plus que dans l'épicarpe, et dans le mésocarpe il vient s'accumuler autour des faisceaux se rendant à l'ovule.

*Graine.* — L'alcaloïde existe dans les téguments, l'albumen et l'embryon, mais c'est surtout dans l'albumen que les réactions sont plus marquées, et principalement à la périphérie, près du suspenseur. Après le développement de l'ovule, la cytosine abandonne complètement les téguments et l'albumen pour se concentrer dans les cotylédons. Dans ces derniers, c'est toujours vers la partie la plus externe que se trouve l'alcaloïde. L'alcaloïde existe également dans la radicule. (Pl. X.)

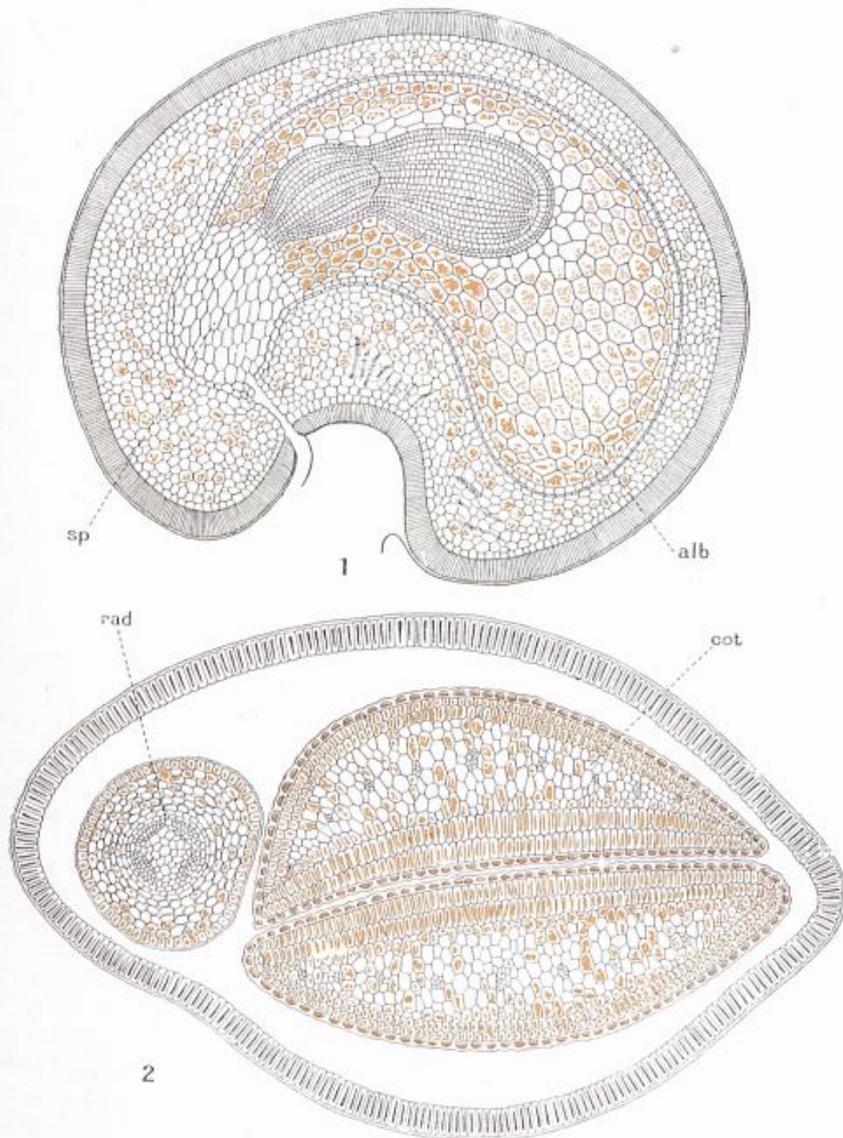
P. GUÉRIN a étendu ces recherches et étudié la localisation dans d'autres espèces de *Cytisus*, parmi lesquelles nous citerons : *C. alpinus* Lam., *C. sessilifolius* L., *C. capitatus* Scop., *C. purpureus* Scop., *C. monspessulanus* L., *C. Adami* Poit., *C. hirsutus* L., *C. Alschingeri* Vis., *C. Weldenii* Vis.

Les espèces les plus riches en cytosine sont les *C. Laburnum* L., *C. alpinus* Lam., *C. Weldenii* Vis. et les moins riches : *C. sessilifolius* L., *C. capitatus* Scop., *C. proliferus* L., *C. Adami* Poit.

Au mois d'octobre, la quantité d'alcaloïde dans l'épiderme des feuilles est très faible. Ce résultat concorde avec les expériences chimiques de CORNEVIN, qui admet que le poison se déplace pour venir se concentrer dans la graine, sans toutefois abandonner complètement la feuille.

VAN DYCK a montré qu'au cours du développement de la plantule, il y avait une énorme diminution de la quantité d'alcaloïdes dans les cotylédons, tandis qu'une augmentation se produisait dans l'hypocotyle et la jeune racine.

Les résultats de P. GUÉRIN sont très intéressants. Ils nous montrent,



D'après P. GUÉRIN.

BONARD. SC.

*Cytisus Laburnum* L.; 1, ovule; 2, graine.





d'une façon très nette, le déplacement continu de l'alcaloïde en vue de sa concentration dans la graine. Cet alcaloïde est, au début, abondant dans les feuilles carpellaires; il en disparaît ensuite et on ne l'y retrouve plus lorsque la graine est formée. Dans l'ovule jeune, ce sont les téguments, puis l'albumen, qui sont riches en alcaloïde. Pendant le développement de l'ovule, l'alcaloïde disparaît de l'albumen qui se résorbe : on le retrouve alors en abondance dans les cotylédons. Il n'y a là rien de bien extraordinaire, puisque les cotylédons doivent ici jouer le même rôle que l'albumen. Mais l'alcaloïde a également abandonné les téguments de l'ovule, puisque dans la graine ils ne renferment plus trace de ce produit.

Il faut convenir que cette migration vers l'organe de reproduction est curieuse, et l'on conçoit que certains savants se soient demandé pourquoi l'alcaloïde vient s'accumuler dans l'embryon pour repasser ensuite dans la jeune plante, s'il n'a aucun rôle à jouer? Nous reviendrons sur ce point dans le chapitre concernant le rôle des alcaloïdes dans les végétaux.

M. RAUWERDA (1) a signalé la présence de cytisine dans plusieurs autres Papilionacées. Il s'est servi, pour la caractériser, de la réaction de VAN DE MOER.

### 3. — Anagyrine.

L'*Anagyrene* est un alcaloïde retiré des graines de l'*Anagyris foetida* L. par HARDY et GALLOIS en 1885, et auquel ils assignèrent la formule  $C^{14}H^{18}Az^3O^2$ .

**Réactions microchimiques.** — Les réactifs les plus caractéristiques de l'anagyrene, et qui permettent la localisation de cet alcaloïde, sont les suivants :

- 1° L'iodure de potassium iodé, qui donne un précipité brun kermès, soluble dans l'hyposulfite de soude ;
- 2° L'iodure de bismuth et de potassium : précipité brun rougeâtre ;
- 3° L'iodure de mercure et de potassium : précipité blanc jaunâtre ;
- 4° L'acide phosphomolybdique : précipité blanc jaunâtre ;
- 5° L'acide picrique : un précipité jaunâtre ;
- 6° Avec le perchlorure de fer, l'anagyrene donne une coloration rouge sang *in vitro*, jaune orangé dans la plante.

**Méthodes de localisation.** — GUÉRIN (2), qui a étudié la localisation de l'anagyrene, donne la préférence à l'action de l'iodure de potassium iodé, contrôlée sur des coupes débarrassées de l'alcaloïde par un séjour

1. A. RAUWERDA : Voortgezette onderzoekingen over het voorkomen van cytisine in verschillende Papilionaceæ. *Nederl. Tijdschr. voor Pharm.*, 9, 353-359, 1897.

2. P. GUÉRIN : *Loc. cit.*, 40-46.

dans l'alcool tartrique, ou par l'action du *perchlorure de fer*. Les réactions citées plus haut ont servi à l'auteur pour contrôler les résultats obtenus avec l'iodure de potassium iodé.

Ses résultats ont été confirmés par JACQUEMIN (1).

**Répartition de l'Anagyrene dans l'*Anagyris foetida* L. — Racine. —** Dans une jeune plantule, chez laquelle les deux cotylédons sont seuls épanouis, on trouve l'alcaloïde : dans les poils radicaux, le parenchyme cortical, l'endoderme, le péricycle, le liber et la moelle. En un mot, tous les éléments en renferment, à l'exception des vaisseaux du bois et des fibres, qui existent déjà. Le point végétatif et la coiffe sont très riches en alcaloïde (JACQUEMIN).

Dans la racine plus âgée, le parenchyme cortical, le liber et les rayons médullaires sont gorgés d'alcaloïde et d'amidon; ce sont surtout les 4-5 assises les plus externes qui sont riches en alcaloïde. Il est préférable, dans ce cas, d'employer le *perchlorure de fer*, qui donne de bons résultats en présence d'une petite proportion d'alcaloïde, et n'a pas d'action sur l'amidon.

**Tige. —** La tige est riche également en anagyrene.

Dans la jeune tige hypocotylée, l'alcaloïde est très abondant dans l'épiderme, le parenchyme cortical et la moelle, et dans quelques éléments du liber. Dans la moelle, l'anagyrene semble occuper de préférence les cellules voisines du bois.

Dans la tige épicotylée, la localisation est identique, mais les poils épidermiques, qui n'existent pas dans la tige hypocotylée, donnent également, sous l'influence du réactif, un précipité brun kermès. Dans une tige plus âgée, l'alcaloïde est abondant dans l'épiderme, le parenchyme cortical, le liber et les rayons médullaires. On n'en retrouve plus trace dans la moelle. Par des coupes longitudinales dans le liber, on peut voir que l'anagyrene est renfermée à la fois dans les cellules du parenchyme libérien et dans les tubes criblés.

Lorsque l'assise subéro-phellodermique apparaît, exfoliant l'épiderme et une partie du parenchyme cortical, l'alcaloïde vient s'accumuler dans les assises phellodermiques, tout en demeurant abondant dans les autres cellules du parenchyme cortical. Ainsi donc, l'anagyrene se trouve répandue d'une façon presque uniforme dans les différentes parties de la jeune tige, tandis que, dans les tiges âgées, elle semble venir s'accumuler dans les parties les plus externes.

Le point végétatif, les mamelons foliaires, les bourgeons axillaires et les poils entourant le sommet végétatif sont riches en anagyrene (JACQUEMIN).

**Feuille. —** Autour de la nervure médiane, l'alcaloïde offre la même

1. A. JACQUEMIN : *Loc. cit.*

répartition que dans la jeune tige ; pour étudier la localisation dans le limbe, il est préférable de s'adresser à de jeunes feuilles, l'alcaloïde y apparaissant dès le début de leur formation. On voit alors que toutes les cellules du parenchyme palissadique et lacuneux donnent avec l'*iodure de potassium iodé* un précipité brun kermès caractéristique. L'examen des préparations est rendu très difficile par suite de la présence de la chlorophylle. Mais dans les feuilles, aussi bien dans la nervure médiane que dans le limbe, ce sont les cellules épidermiques qui donnent la réaction la plus intense et renferment le plus d'alcaloïde. L'anagyryne n'existe pas dans les cellules stomatiques et semble avoir disparu dans les poils épidermiques âgés, alors qu'elle existait dans les poils tout à fait jeunes (P. GUÉRIN).

*Organes reproducteurs.* — L'alcaloïde est peu abondant dans la fleur. Dans les *pétales*, on l'observe dans les cellules de l'épiderme et dans quelques cellules du parenchyme. Dans les *sépales*, il est surtout abondant dans l'épiderme externe ; l'épiderme interne et les cellules du parenchyme n'en renferment que des traces.

Dans la *graine*, les cotylédons présentent dans leurs cellules épidermiques et dans les éléments parenchymateux des précipités et des colorations intenses. Les cellules épidermiques et les cellules externes semblent renfermer une proportion d'alcaloïde plus élevée que les cellules internes. La radicule renferme aussi de l'anagyryne. Les réactions s'observent avec la plus grande netteté dans les cotylédons à peine épanouis.

L'alcaloïde est donc entièrement localisé dans les cotylédons et la radicule ; le tégument, s'il en renferme, n'en contient que des traces.

En étudiant l'action de l'obscurité sur la jeune plante, P. GUÉRIN a pu constater qu'elle ne modifie en rien les quantités d'alcaloïde qu'on y rencontre normalement. Les précipités et les colorations sont aussi intenses que dans la jeune plante qu'on a laissé germer librement à la lumière.

#### 4. — Alcaloïde du *Pithecolobium Saman* Benth. (*Calliandra Saman*).

PUGGE, en 1884, a extrait des semences de *Pithecolobium* un alcaloïde qu'il dénomma *Pithécolobine*. Les propriétés de ce corps sont peu connues.

**Caractères microchimiques.** — 1° L'*iodure de potassium iodé* donne un précipité brun granuleux ;

2° L'*iodure de bismuth et de potassium* : un précipité rouge ;

3° L'*eau bromée* : une coloration rose jaunâtre ;

4° Le *bichlorure de mercure* : un précipité blanc ;

5° L'*acide phosphomolybdique* : un précipité jaune ;

6° Les chlorures d'or et de platine, le tanin, le sulfocyanure de potassium, le bichromate de potassium, le phosphomolybdate d'ammoniaque, réagissent également avec la pithécolobine.

**Méthodes de localisation et Répartition de l'alcaloïde.** — JACQUEMIN (1) a étudié la localisation et la répartition de cet alcaloïde sur des échantillons adultes ou en voie de développement.

*Racine.* — Le point végétatif et la coiffe de la racine sont riches en alcaloïde. Vers le milieu de cet organe, l'alcaloïde est situé dans les cellules du parenchyme cortical, en grande quantité autour du cylindre central, en petite quantité et à de rares endroits dans le reste du parenchyme; le liber en est extrêmement riche, ainsi que l'endoderme.

Dans une racine très jeune, la répartition est identique, mais on ne trouve plus de distinction entre les diverses zones du parenchyme cortical. L'assise pilifère n'en renferme pas. Lorsque la différenciation des éléments du bois et du liber n'est pas encore faite, on trouve l'alcaloïde dans tous les tissus en voie de division.

*Tiges hypocotylées.* — Réactions intenses dans l'épiderme, le parenchyme cortical, le liber et la moelle, surtout dans cette dernière.

*Tiges épicotylées.* — Même répartition, mais en grande abondance dans les couches sous-épidermiques, les couches les plus centrales du parenchyme cortical, et dans l'épiderme.

*Tiges adultes.* — Dans le liber et la moelle, dans le parenchyme cortical, il est particulièrement abondant près des arcs sclérenchymateux; enfin, il y en a à l'extrémité externe des rayons médullaires. (Pl. XI, 2).

Le point végétatif de la tige est riche en alcaloïde; il en est de même des ébauches des feuilles dans les mamelons foliaires, des bourgeons axillaires. Les cellules basales des poils renferment souvent de l'alcaloïde.

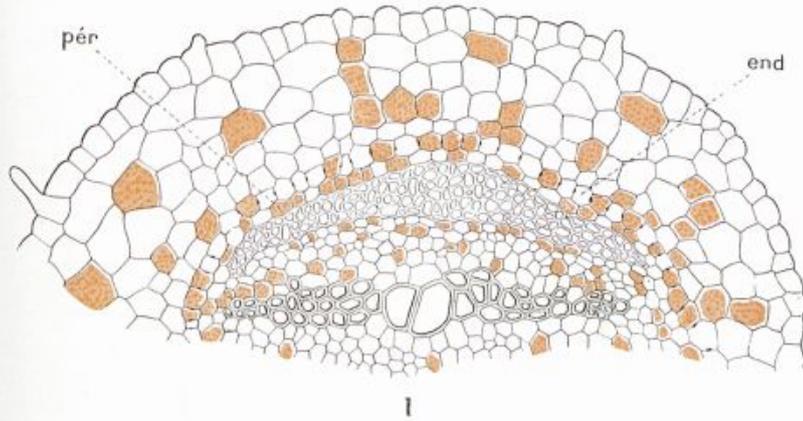
*Feuille.* — L'alcaloïde est très répandu dans les épidermes et le parenchyme du limbe, ainsi que dans le parenchyme de la nervure médiane de la feuille jeune. Dans la feuille adulte, le parenchyme de la nervure médiane est beaucoup moins riche.

*Graine:* absence de principe basique dans le tégument. Les cotylédons, la radicule et la gemmule sont riches en alcaloïde. Les cotylédons du jeune *Pithecolobium saman* Benth. montrent une grande quantité d'alcaloïde dans leur parenchyme et dans les épidermes, mais surtout dans l'épiderme externe et inférieur. Le liber des faisceaux en contient aussi.

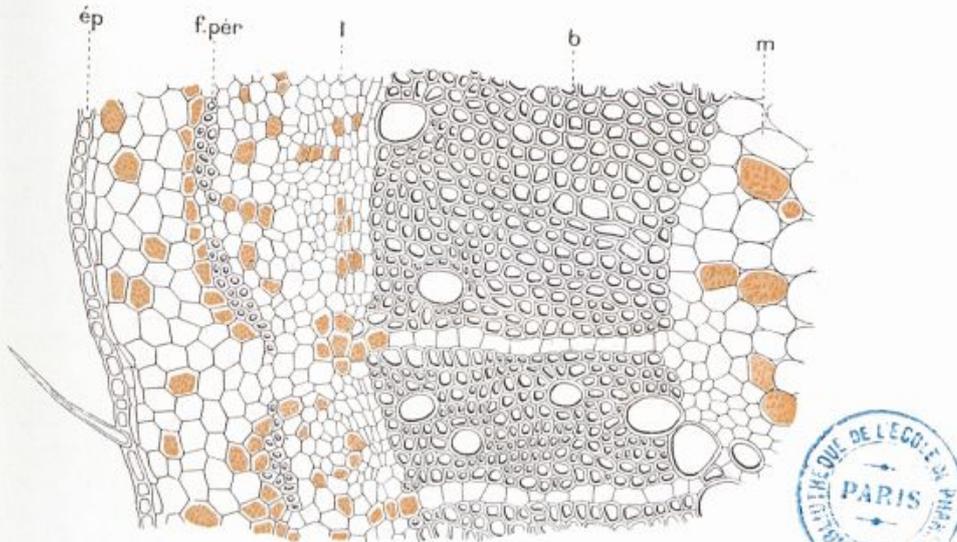
##### 5. — Ésérine.

L'Esérine est retirée des semences du *Physostigma venenosum* Balf. Sa formule est  $C^{16}H^{21}Az^3O^2$ . Elle est peu soluble dans l'eau, très soluble

1. A. JACQUEMIN : *Loc. cit.*



1



2

D'après A. JACQUERMIN.

LEONARD, SC.

*Spartium junceum* L. : 1, racine. *Pithecolobium saman* Benth. : 2, tige.





dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, la benzine, le sulfure de carbone.

**Caractères microchimiques.** — Les réactifs permettant la caractérisation de l'ésérine sont :

- 1° L'iodure de potassium iodé : précipité sous forme de gouttelettes huileuses, rouge brun ;
- 2° L'iodure de bismuth et de potassium : précipité rouge brun, en petites granulations se rassemblant rapidement en sphères ;
- 3° L'acide phosphotungstique ou phosphomolybdique : précipité blanc jaunâtre, amorphe, devenant bleu ;
- 4° L'acide picrique : précipité jaune amorphe, soluble dans beaucoup d'eau ;
- 5° Le chlorure d'or : abondant précipité jaune, amorphe, soluble dans beaucoup d'eau ;
- 6° L'ammoniaque : coloration jaune orange ;
- 7° L'eau de chaux : coloration orange, qui devient rouge, puis bleu vert ;
- 8° L'eau de brome : donne un abondant précipité, sous forme de gouttelettes huileuses jaunes, qui se dissolvent dans un excès de réactif. Après évaporation, il se forme de jolis cristaux, barbelés, qui polarisent la lumière ;
- 9° L'acide azotique concentré : coloration jaune citron ;
- 10° L'acide sulfurique additionné de vanadate de sodium : coloration violet rouge ;
- 11° L'acide sulfurique additionné de sulfate de cérium ou de séléniate de sodium : coloration jaune orangé.

**Méthodes de localisation.** — La localisation de cet alcaloïde a été obtenue par BARTH (1) au moyen de la précipitation par l'iodure de potassium iodé, avec contrôle des résultats au moyen de l'eau de brome et des vapeurs d'iode, qui donnent une coloration jaune dans les cellules à alcaloïde et colorent peu les grains d'amidon. Les vapeurs d'acide chlorhydrique donnent également une coloration violette dans les cotylédons, à l'exclusion de l'enveloppe. Avec des coupes traitées par l'alcool tartrique, cette réaction n'a plus lieu.

**Répartition de l'alcaloïde.** — D'après BARTH, l'alcaloïde se trouverait, dans les cotylédons, principalement dans les deux rangées de cellules les plus externes. Ces cotylédons sont riches en amidon ; toutefois, les deux assises externes, riches en alcaloïde, ne renferment pas d'amidon. La présence d'alcaloïde dans la gemmule et la racicule est douteuse. Le tégument ne donne aucune réaction.

JACQUEMIN (2) a pu avoir à sa disposition une jeune germination de

1. H. BARTH : Studien über den mikrochem. Nachweis von Alkaloiden in Arzneidrogen. *Dissert.*, Zurich, 45, 1898.

2. A. JACQUEMIN : *Loc. cit.*

*Physostigma venenosum* Balf.; il y a étudié la répartition de l'alcaloïde par voie microchimique.

*Cotylédon vert.* — Tout l'alcaloïde a disparu et semble ainsi avoir émigré, avec les réserves, dans le corps de la plante.

*Racine.* — Traces dans le liber et dans quelques cellules du parenchyme.

*Tige.* — Quelques traces dans le liber, et un peu dans quelques cellules du parenchyme cortical.

*Feuille.* — Réaction faible dans le parenchyme lacuneux, près de la nervure principale; on en trouve aussi en petite quantité dans les petites cellules du parenchyme de la nervure médiane, principalement du côté de la face supérieure.

#### 6. — Alcaloïdes des *Lupinus*.

Les alcaloïdes des *Lupinus* sont : la *Lupinine*, la *Lupinidine*, les *Lupanines*.

La *Lupinine*, entrevue par CASSOLA, a été étudiée par BAUMERT. Sa formule est  $C^{21}H^{49}Az^2O^2$ ; c'est un corps cristallisé fondant à 67°-68°. Elle possède une odeur agréable de fruits et une saveur extrêmement amère. Elle est facilement soluble dans l'eau, l'alcool et l'éther, et se volatilise avec la vapeur d'eau.

La *Lupinidine* a été également étudiée par BAUMERT. C'est une base liquide, oxydable, moins soluble dans l'eau chaude que dans l'eau froide, facilement soluble dans l'alcool et l'éther. Elle est volatile avec la vapeur d'eau. Elle est assez toxique. D'après WILLSTÄTTER elle serait identique à la spartéine.

La *Lupanine droite* a été découverte par HAYERS et étudiée par SCHMIDT et SIEBERT, SOLDANI. Elle cristallise en aiguilles fusibles à 44°. Sa formule est  $C^{19}H^{34}Az^2O$ . Soluble dans l'eau froide, elle se précipite lorsqu'on chauffe cette solution. Très soluble dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, la ligroïne.

La *Lupanine inactive* a été découverte par SOLDANI. Cet alcaloïde cristallise en aiguilles fusibles à 99°, facilement solubles dans l'eau, l'alcool, l'éther, le chloroforme, la ligroïne; chauffé, il répand l'odeur de pyridine.

**Caractères microchimiques.** — 1° *Iodure double de mercure et de potassium* acidulé par l'acide chlorhydrique : précipité blanc;

2° *L'iodure de potassium iodé au 1/450* : précipité brun kermès à reflets métalliques bleutés dans les cellules où les alcaloïdes sont abondants;

3° *L'acide phosphomolybdique* : précipité blanc bleuâtre.

**Méthodes de localisation.** — ERRERA (1) a recherché la localisation

1. ERRERA : Distinction microchimique des alcaloïdes et des matières protéiques. *Ann. Soc. belge de Microsc.*, 43, 73, 1889. *Recueil Inst. bot.* ERRERA, 2, 221-224, 1906.

de ces alcaloïdes au moyen des réactions précédentes, contrôlées ensuite sur des coupes débarrassées de l'alcaloïde par l'action de l'alcool tartrique.

JACQUEMIN a complété cette étude par l'examen de nombreuses espèces de Lupins.

**Répartition des alcaloïdes dans le *Lupinus elegans* H. B. et K.** — ERRERA a spécialement étudié le cotylédon et les feuilles du *Lupinus elegans* H. B. et K.

Les épidermes, particulièrement l'épiderme supérieur, renferment les alcaloïdes.

Dans les cotylédons, quelques cellules du parenchyme (palissadique ou lacuneux) en contiennent également.

**Répartition des alcaloïdes dans le genre *Lupinus*.** — JACQUEMIN (1) a étudié les *L. angustifolius*, *L. micranthus* Dougl., *L. luteus* L., *L. polyphyllus* Lindl., *L. albus* L., *L. mutabilis* Sweet.

**Racine.** — Dans le *L. mutabilis* Sweet, on trouve un précipité abondant dans tout le parenchyme cortical, dans l'endoderme, le liber, le cambium, le parenchyme ligneux, la moelle et les rayons médullaires, c'est-à-dire dans tous les tissus.

La répartition de l'alcaloïde est identique dans les autres espèces de Lupins.

**Tige.** — Dans les tiges hypocotylées, l'alcaloïde siège dans l'épiderme, le parenchyme cortical, les rayons médullaires, au voisinage du bois, et un peu dans le liber.

La tige épicotylée montre une répartition semblable.

Dans les tiges âgées, l'alcaloïde est surtout abondant vers les couches externes du parenchyme cortical et dans l'épiderme.

Le point végétatif de la tige est très riche en alcaloïde; il en est de même des ébauches foliaires et des bourgeons axillaires.

**Feuille.** — L'alcaloïde est surtout situé dans les deux épidermes et dans le parenchyme et le liber de la nervure médiane. Il existe aussi dans les parenchymes du limbe, mais sa présence est masquée par la chlorophylle; le précipité d'alcaloïde y apparaît comme un fin pointillé entourant chaque chloroplaste, formant ainsi un réseau délicat.

Dans les feuilles cotylédonaires, la réaction se produit surtout dans l'épiderme supérieur, les assises palissadiques et l'épiderme inférieur.

Dans le mésophylle, les cellules à alcaloïdes se trouvent groupées en amas.

**Fleur.** — Les réactions sont surtout intenses dans les deux épidermes, et faibles dans le parenchyme de l'étendard, des ailes et de la carène.

Dans le calice, on en trouve seulement dans l'épiderme externe des

1. A. JACQUEMIN : *Loc. cit.*

sépales. Les tissus des étamines, du filet et du pistil, sont riches en principes alcaloïdiques.

*Fruit vert.* — Principalement dans l'épicarpe et les cellules basales des poils ; on en trouve aussi dans l'endocarpe et le mésocarpe, dans le parenchyme contigu aux faisceaux, dans le liber de ces mêmes faisceaux et dans le funicule.

*Graine* (1). — Il n'y a pas d'alcaloïdes dans le tégument ; ils sont extrêmement abondants dans le parenchyme, les épidermes et le liber des cotylédons. On en rencontre également en grande quantité dans la radicule et la gemmule.

Nous n'avons rien à ajouter aux observations de JACQUEMIN que nous avons vérifiées sur le *Lupinus albus* L.

**Répartition des alcaloïdes dans le cours de la végétation.** — VAN DYCK (2) a étudié la répartition de l'alcaloïde pendant la germination. Dans la graine, les cotylédons gorgés d'alcaloïdes perdent peu à peu ce principe pendant la germination. On le retrouve dans la racine, l'hypocotyle et les feuilles, dans des cellules placées autour des faisceaux et dans l'épiderme. Au fur et à mesure que la plante vieillit, la base alcaloïdique disparaît du parenchyme cortical, de l'épiderme et de la moelle, pour se diriger vers le liber. Ce sont surtout les cellules-compagnes qui sont riches en alcaloïdes ; il y en a beaucoup moins dans les tubes criblés.

#### 7. — Alcaloïde des *Erythrina*.

JACQUEMIN a prouvé l'existence d'alcaloïdes dans *E. viarum* Tod. et *E. insignis* Tod. et l'absence de principes analogues dans *E. Crista-galli* L., au moyen de la méthode d'ERRERA.

**Répartition des alcaloïdes dans le genre *Erythrina*.** — La répartition est identique dans les deux espèces d'*Erythrina*.

*Racine.* — Endoderme, couches endodermiques et moelle ; un peu dans le liber ; point, ou des traces dans quelques rares cellules du parenchyme. Dans des exemplaires plus âgés, l'alcaloïde est beaucoup moins abondant dans la moelle et plus répandu dans le parenchyme.

La coiffe et le point végétatif de la racine ne semblent pas contenir d'alcaloïdes.

*Tige hypocotylée et tige épicotylée.* — Dans l'épiderme et le parenchyme cortical, surtout dans les assises sous-épidermiques et autour du péricycle ; dans le liber et la moelle.

Dans l'épiderme et la couche sous-épidermique, on trouve des cellules

1. CLAUTRIAU a également étudié la localisation des alcaloïdes du Lupin dans la graine de *Lupinus albus* L. (CLAUTRIAU. Nature et signification, etc.).

2. VAN DYCK : *Loc. cit.*

isolées arrondies, plus grandes, plus volumineuses, dans lesquelles l'alcaloïde est extrêmement abondant.

*Feuille.* — L'alcaloïde est surtout localisé dans les grandes cellules épidermiques ou sous-épidermiques. Ces cellules sont principalement situées aux environs des petites nervures, rarement près de la nervure médiane.

Le point végétatif de la tige, les mamelons foliaires, les bourgeons axillaires, sont très riches en principe alcaloïdique, et on retrouve les grandes cellules spécialisées un peu éparpillées ou formant des rangées longitudinales extrêmement riches en principe actif.

*Graine.* — Rien dans le tégument. Par contre, l'embryon (cotylédons, gemmule et radicule) est riche en alcaloïde. Il en est de même du parenchyme et des assises épidermiques et sous-épidermiques des cotylédons.

**Répartition des alcaloïdes dans l'*Erythrina Corallodendron* L.** — Nous n'avons pu étudier la localisation dans les mêmes espèces que JACQUEMIN, mais nous avons eu à notre disposition un exemplaire de *E. corallodendron* L. cultivé dans les serres de l'École supérieure de Pharmacie.

Nous nous sommes servi, pour cette localisation, de l'iodure de potassium iodé, de l'acide picrique, et du réactif de DRAGENDORFF.

La répartition de l'alcaloïde est tout à fait spéciale et curieuse; il faut surtout l'étudier dans le pétiole de la feuille.

*Racine.* — L'alcaloïde se trouve dans le parenchyme cortical et les rayons médullaires; mais il est surtout abondant dans les cellules du phellodème qui avoisinent l'assise génératrice dont les cellules restent transparentes. Enfin dans certaines cellules spéciales, que nous retrouverons dans les organes aériens, le précipité est tellement abondant que la cellule ne forme plus qu'une tache noire. Ces éléments se distinguent facilement des cellules voisines par leur plus grande dimension (Pl. XII, 6).

*Pétiole.* — Ce pétiole est renflé par suite du développement exagéré du parenchyme cortical, et ce renflement atteint une longueur de 1 centimètre à 1 centimètre et demi.

Dans cet organe renflé, l'alcaloïde est presque uniquement situé dans de grandes cellules placées immédiatement sous l'épiderme, ou séparées de ce dernier par une, rarement deux rangées de cellules. Ces éléments sont isolés les uns des autres et, par leur dimension, se distinguent très facilement des cellules du parenchyme cortical. Ce sont de véritables réservoirs à alcaloïdes, qui se trouvent ainsi répartis sur tout le pourtour de la coupe, et donnent à la préparation traitée par l'iodure de potassium iodé, un aspect très particulier, que nous avons essayé de reproduire (Pl. XII, 2, 4).

Ces cellules se distinguent très facilement sans traitement préalable par l'iodure de potassium iodé. Elles sont caractérisées par l'absence de chlorophylle, et, comme elles se trouvent situées dans un tissu chlorophyllien, rien n'est plus facile que de les reconnaître.

Lorsqu'on traite, au préalable, les coupes par l'alcool tartrique, on n'obtient plus le précipité caractéristique, dans ces éléments. Leur contenu n'est pas tannifère, car les réactifs des tanins, perchlorure de fer, sulfate de fer, ne donnent aucune réaction.

Dans le rachis, l'alcaloïde est également situé dans les grandes cellules sous-épidermiques semblables à celles que nous venons de signaler dans le pétiole (Pl. XII, 4).

*Feuille.* — Dans la nervure, nous retrouvons ces réservoirs à alcaloïdes. Dans le limbe, ces cellules sont situées sous l'épiderme ou l'assise sous-épidermique. L'alcaloïde existe aussi dans l'épiderme inférieur, principalement au-dessous de la nervure médiane (Pl. XII, 5).

*Tige âgée.* — Dans la tige âgée, l'assise subéro-phelloidermique a fonctionné et a très probablement pris naissance dans l'épiderme, car toutes les cellules des alcaloïdes se trouvent situées en dessous du liège (Pl. XII, 3). On trouve également une petite quantité d'alcaloïde dans l'épiderme, le parenchyme cortical, les rayons médullaires et dans quelques cellules de la moelle.

#### 8. — Alcaloïde de l'*Amorpha fruticosa* L.

MIRANDE (1), en étudiant le développement du *Cuscuta japonica* Choisy sur l'*Amorpha fruticosa* L., a pu caractériser chez ce dernier, par les réactifs microchimiques, la présence d'un alcaloïde.

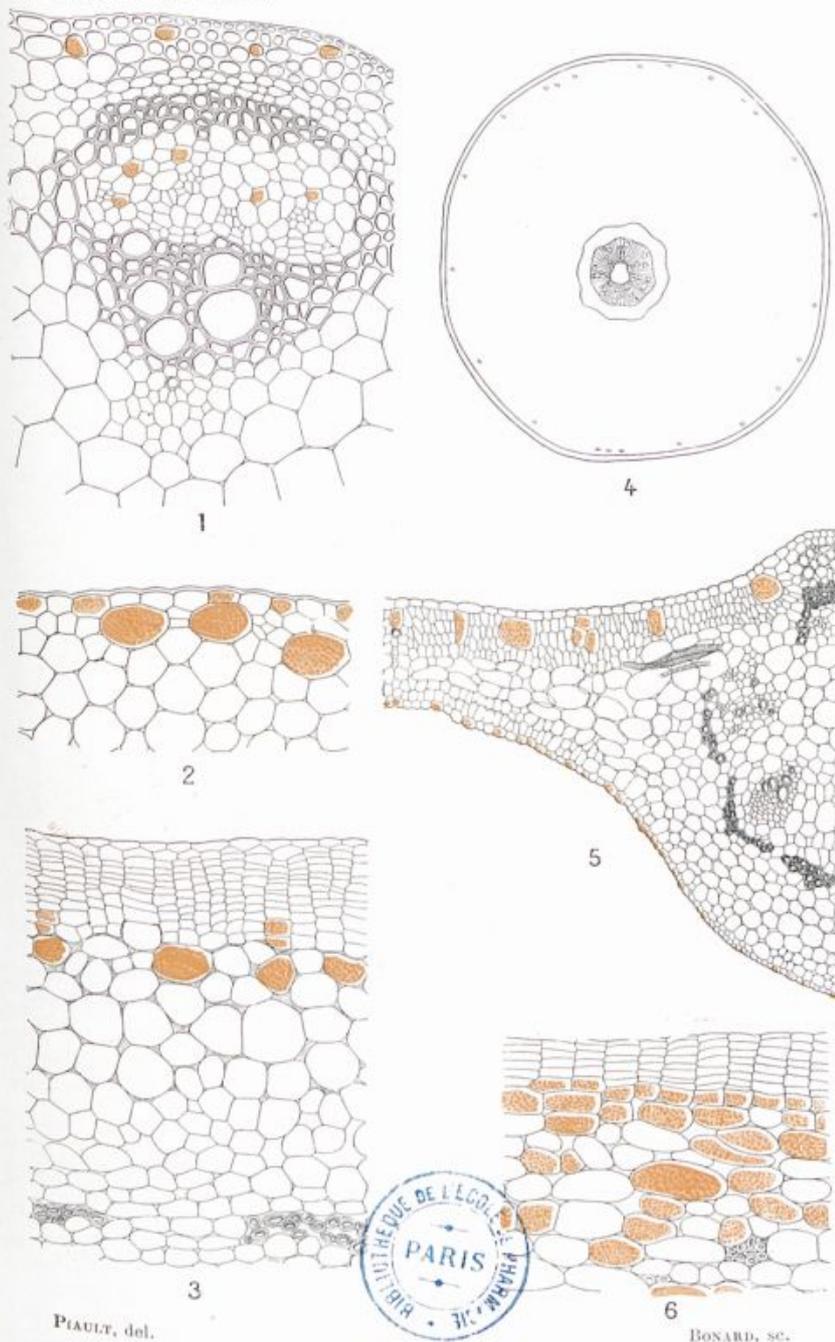
L'iodure de potassium iodé donne, dans le parenchyme cortical interne, ainsi que dans quelques cellules libériennes, des précipités jaunes et jaune brun; dans la partie périphérique de la moelle et dans quelques cellules libériennes, il se produit un précipité abondant brun kermès, devenant rouge brun si le réactif est assez concentré. Les iodures de bismuth et de potassium, de mercure et de potassium, donnent aussi des précipités, mais moins nets. L'hyposulfite de sodium dissout les précipités obtenus.

L'acide phosphomolybdique colore quelques cellules en jaune.

Après action de l'alcool tartrique, la plupart des précipités précédents ne se produisent plus.

L'auteur admet que les tissus considérés doivent contenir un alcaloïde en même temps que des substances albuminoïdes qui gênent les réactions.

1. MIRANDE : Recherches physiologiques et anatomiques sur les Cuscutacées. Thèse Doct. Paris, 111, 1900.



PIAULT, del.

BONARD, sc.

*Erythrina Corallodendron* L. : 1, faisceau du rachis ; 2, parenchyme cortical de la partie renflée du pétiole des folioles avec les « réservoirs à alcaloïdes » ; 3, tige ; 4, coupe schématique de la partie renflée du pétiole des folioles ; 5, feuille ; 6, parenchyme cortical de la racine.



9. — Alcaloïde du *Thermopsis fabacea* DC.

GUÉRIN avait signalé la présence d'alcaloïde dans le *Thermopsis fabacea* DC. JACQUEMIN a repris cette étude microchimique de la tige et de la feuille de *T. fabacea* DC. et *T. lanceolata* R. Br.; il a confirmé les résultats de GUÉRIN et les a complétés par la localisation de l'alcaloïde dans la graine.

**Répartition de l'alcaloïde dans les *Thermopsis*.** — Dans la tige, l'alcaloïde est abondant dans l'épiderme, le parenchyme cortical et le liber. Dans les feuilles, il est de même très abondant dans l'épiderme et le parenchyme ambiant de la nervure médiane. On le trouve aussi dans le parenchyme du limbe. La graine renferme le principe alcaloïdique dans toutes ses parties : tégument (surtout les couches les plus internes), cotylédons, radicule, gemmule, etc.

10. — Alcaloïde du *Baptisia australis* R. Br.

L'étude microchimique du *Baptisia australis* R. Br. a été faite par GUÉRIN, puis reprise par JACQUEMIN.

L'alcaloïde qui existe dans cette plante est très probablement la *Baptitoxine* de VAN SCHÖEDER.

1° L'iodure de potassium iodé le précipite en brun kermès;

2° L'eau bromée lui communique une coloration orangée;

3° L'acide phosphomolybdique, l'iodure double de mercure et de potassium, le bichlorure de mercure, l'acide picrique, donnent les réactions habituelles des alcaloïdes;

4° L'acétate de plomb donne une coloration jaune vif magnifique. Cette réaction n'est pas instantanée; il est indispensable de diaphragmer fortement la lumière pour mieux voir la coloration.

**Répartition de l'alcaloïde dans le *Baptisia australis* R. Br.** — La répartition de l'alcaloïde est la suivante :

*Tige.* — Epiderme, parenchyme cortical, liber, rayons médullaires.

*Feuille.* — Epidermes, parenchyme, surtout dans la nervure principale; liber de cette nervure.

*Fruit.* — L'épicarpe est riche en principe alcaloïdique, le mésocarpe beaucoup moins; dans le funicule, on en trouve dans le liber des faisceaux. L'ovule est riche en alcaloïde.

11. — Alcaloïdes de Légumineuses diverses : *Acacia Farnesiana* Wall. et *Sophora tomentosa* L.

JACQUEMIN a démontré, au moyen de réactions microchimiques, la présence d'alcaloïdes dans d'autres Légumineuses, peu étudiées chimiquement.

L'*Acacia Farnesiana* Wall. renferme un alcaloïde qui semble surtout exister dans la tige adulte, car de jeunes plantes de 5 centimètres de hauteur n'ont donné aucune réaction dans cet organe. Les graines (tégument, cotylédons, radicule), ne donnent pas davantage de précipité par le réactif iodo-ioduré.

Dans la racine jeune, on trouve ce principe alcaloïdique dans quelques cellules du parenchyme cortical, sous l'assise pilifère et près de l'endoderme ; dans quelques cellules endodermiques et libériennes.

Dans la tige adulte, le principe actif est peu abondant et siège dans les endroits où d'habitude on le rencontre chez les végétaux : épiderme, parenchyme cortical et liber.

L'*Acacia tenerrima* Miq. renferme également un alcaloïde qui n'a jamais été isolé.

Le *Sophora tomentosa* L. renferme un alcaloïde qui, pour certains auteurs, serait de la cytisine, et pour d'autres, un alcaloïde inconnu.

La localisation est la suivante :

*Racine.* — Réaction abondante dans le parenchyme cortical, le cambium, le liber, les rayons médullaires.

*Tige.* — La tige est riche en alcaloïde situé dans l'épiderme, le parenchyme cortical (principalement sous l'épiderme, près du sclérenchyme et entre les faisceaux libériens), dans le liber, les rayons médullaires et la moelle.

*Feuille.* — La réaction est très nette dans les deux épidermes et le parenchyme lacuneux de la nervure médiane; elle l'est moins dans le parenchyme du limbe.

*Graine.* — On trouve un peu d'alcaloïde dans les couches externes et moyennes du tégument, dans les épidermes et le parenchyme des cotylédons, et dans tout l'embryon.

## OMBELLIFÈRES

### Conicine.

La *Conicine* ou *Cicutine* a été isolée de la graine de *Conium maculatum* L. par GIESECKE en 1837. C'est une base liquide, incolore, oléagineuse, émettant des vapeurs à la température ordinaire. Elle est assez peu soluble dans l'eau, très soluble dans l'éther et l'alcool absolu, les huiles fixes et volatiles. Sa formule est  $C^8H^{17}Az$ . Avec le sulfate de cuivre, elle donne un précipité bleu, peu soluble dans l'eau, soluble dans l'éther et l'alcool. Sa constitution est parfaitement connue: c'est l' $\alpha$ -propylpipéridine, et sa synthèse a pu être faite par LADENBURG. C'est le premier alcaloïde qui ait été obtenu artificiellement.

**Caractères microchimiques.** — De ses nombreuses réactions nous ne retiendrons que les principales :

- 1° L'acide phosphomolybdique, l'acide phosphotungstique donnent un précipité blanc, à peine jaunâtre;
- 2° L'iodure de mercure et de potassium : un précipité blanc jaunâtre;
- 3° L'iodure de bismuth et de potassium : un précipité rouge brun;
- 4° Le chlorure mercurique : un précipité blanc caséux, en solution neutre, soluble dans l'acide chlorhydrique;
- 5° Le sulfate de cuivre : un précipité bleuâtre, seulement en solution neutre;
- 6° Les vapeurs de brome donnent des cristaux très brillants lorsqu'on les examine à la lumière polarisée;
- 7° L'eau de brome donne un précipité jaunâtre, aussi bien en solution acide qu'en solution alcaline;
- 8° Le chlorure d'or : un précipité jaunâtre;
- 9° Le tanin, le chlorure de platine, le bichromate de potassium, le sulfocyanate de potassium ne donnent aucune réaction;
- 10° Les acides sulfurique, chlorhydrique, azotique ne donnent aucune coloration avec la conicine. Il en est de même de l'acide sulfurique additionné de sulfate de cérium ou de séléniate de sodium;
- 11° L'acide sulfurique additionné de vanadate de soude donne, avec la conicine, une coloration bleu violet;
- 12° Si, à une solution de conicine dans la benzine, on ajoute des cristaux de tétrachloroquinone, ou une solution de ce corps dans la benzine, on obtient une coloration bleue (BEHRENS). Cette réaction ne peut être utilisée en microchimie.

**Méthodes de localisation.** — La conicine a été localisée dans le fruit de Ciguë par ANEMA (1), au moyen de l'iodure de potassium iodé, par ERRERA (2), par CLAUTRIAU (3), par ROSOLL (4), par H. BARTH (5) et enfin par HERDER (6).

L'iodure de potassium iodé donne un précipité abondant dans les cellules à conicine. Il est indispensable de faire des coupes suffisamment

1. P. ANEMA : De zetel der Alkaloïden bij enkele narkotische Planten. Utrecht, 1892; analysé : *Jahr. d. Pharm.*, 197-198, 1892.
2. ERRERA : Sur la distinction microchimique des alcaloïdes et des matières protéiques. *Recueil Inst. bot.* ERRERA, 2, 219, 1906.
3. CLAUTRIAU : Localisation et signification des alcaloïdes dans quelques graines. *Ann. Soc. belge Microsc.*, 18, 40, 1894 et *Recueil Inst. bot.* ERRERA, 2, 269, 1906.
4. ROSOLL : Ueber den mikrochemischen Nachweis der Curcumins und Conicins in den veget. Geweben. *Jahresb. der niederösterr. Landes-Oberrealschule, Wiener-Neustadt*, 1894.
5. H. BARTH : Studien über den mikrochem. Nachweis von Alkaloid in Arzneimitteln. *Dissert.*, Zurich, 17, 1898.
6. HERDER : Über einige neue allgemeine Alkaloidreagentien und deren mikrochemische Verwendung. *Arch. d. Pharm.*, 244, 132, 1906. *Dissert.*, Strasbourg, 1905.

épaisses et de suivre sous le microscope la formation du précipité qui apparaît tout d'abord sous forme de gouttelettes. ERRERA emploie une solution d'iodure de potassium iodé très faible, au 1/450. Le précipité qui se forme disparaît peu à peu pour réapparaître si l'on fait de nouveau agir une solution iodée plus concentrée.

L'acide phosphomolybdique donne de bons résultats; si l'on veut rendre plus visible le fin précipité obtenu par ce réactif, on ajoute une trace de solution d'iodure de potassium iodé qui le colore légèrement.

H. BARTH emploie aussi l'iodure de bismuth et de potassium, le chlorure d'or, et encore l'eau de brome, ou les vapeurs de brome et d'iode. TSCHIRCH et (ESTERLÉ<sup>(1)</sup>) ont recours à l'emploi de l'acide sulfurique additionné de vanadate de soude.

HERDER a employé la méthode de localisation par l'iodure double de baryum et de mercure. Les coupes plongées dans ce réactif sont ensuite mises dans la solution de bichromate de potassium suivante : bichromate de potassium, 5 grammes; solution de chloral à 30 p. 100, 100 grammes; acide chlorhydrique, 11 gouttes. On n'obtient pas de précipité, mais simplement une coloration jaune ou jaune brun dans les cellules à conicine.

**Répartition de la Conicine dans le *Conium maculatum* L.** — Dans le fruit, la conicine est localisée : dans les épidermes externe et interne, les poils papilleux du jeune fruit, et aussi au voisinage des faisceaux du péricarpe. Elle se trouve surtout située dans l'endocarpe et l'assise la plus interne du mésocarpe. L'endocarpe est formé de cellules tabulaires à parois minces, l'assise interne du mésocarpe, au contraire, de grandes cellules cubiques (« cellules cubiques de la Ciguë ») (Pl. XIII, 3, 4).

Dans la graine, l'alkaloïde fait défaut dans l'albumen et l'embryon.

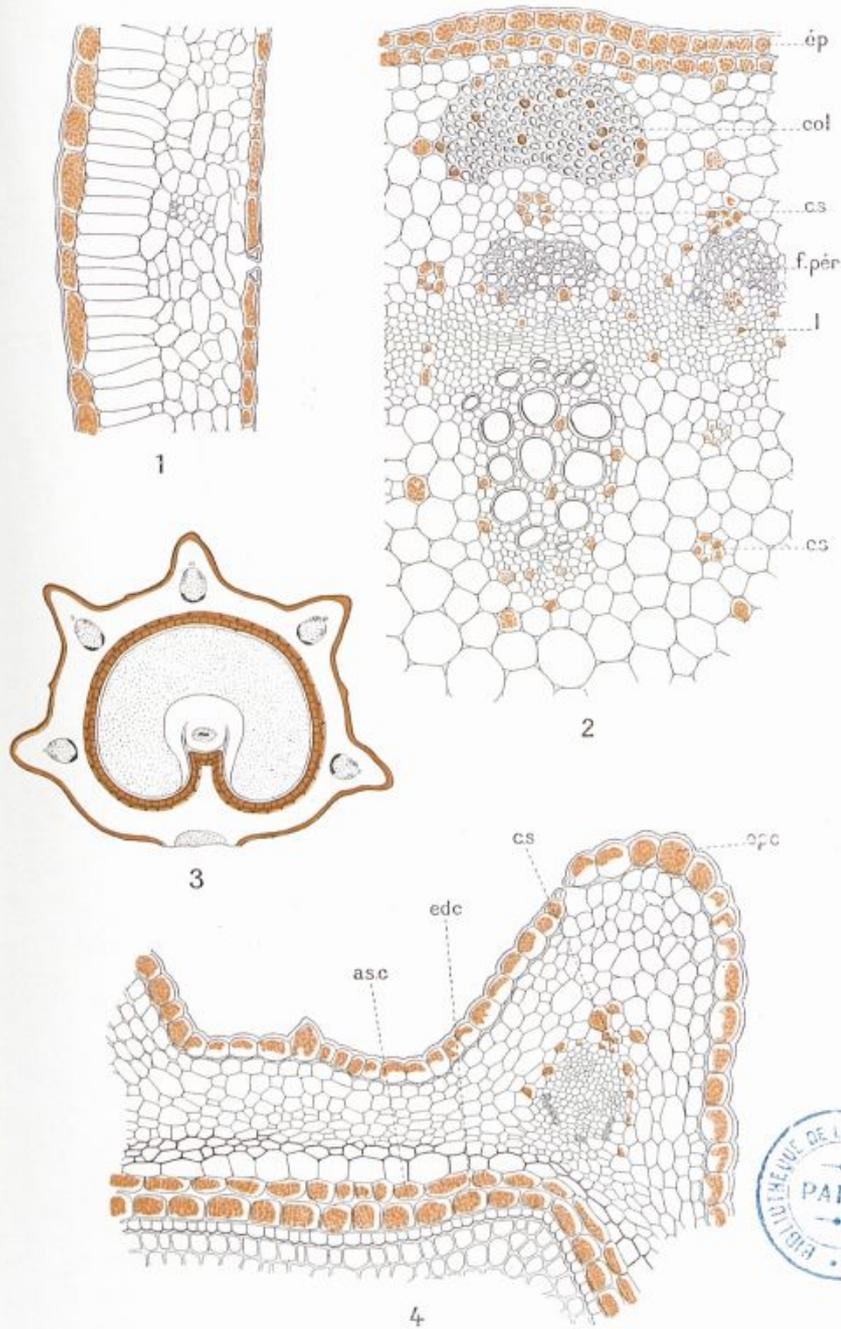
HERDER a trouvé également l'alkaloïde dans les deux assises les plus internes du fruit, dans le parenchyme du mésocarpe, au voisinage des faisceaux. Il ne trouve pas, dit-il, de conicine dans l'épicarpe ni dans l'assise sous-jacente.

Dans la graine, il constate également que ni l'albumen, ni l'embryon, ne se colorent par sa méthode de localisation.

H. BARTH met également en doute la présence d'alkaloïde dans l'épicarpe, bien qu'il reconnaisse cependant avoir obtenu un précipité par l'iodure de potassium iodé dans les éléments épidermiques.

Pour CLAUTRIAU, l'alkaloïde que l'on trouve dans ces cellules est un déchet de l'activité des cellules de l'ovule, résultant de sa croissance et qui s'accumule vers la périphérie sans être utilisé ou détruit, comme cela se produit également dans d'autres plantes (*Atropa*). Les cellules du péricarpe, en mûrissant, détruisent leur alkaloïde; ceci nous expliquerait

1. TSCHIRCH et (ESTERLÉ : *Anat. Atlas*, 160, 1895-98.



PIAULT, del.

BONARD, sc.

*Conium maculatum* L.; 1, feuille; 2, tige; 3, coupe schématique du fruit;  
4, paroi du jeune fruit.



pourquoi les fruits verts non mûrs sont plus actifs que les fruits desséchés et mûrs.

Dans les jeunes germinations de *Conium maculatum* L., l'alcaloïde est contenu dans toutes les cellules épidermiques de l'axe hypocotylé (sauf dans les cellules stomatiques).

L'assise pilifère et les poils radicaux n'en présentent pas.

D'après ROSOLL, la conicine se trouve surtout dans tous les tissus actifs : formations embryonnaires, méristèmes des points végétatifs, parenchyme du tissu criblé.

L'alcaloïde émigre ensuite dans les parties périphériques de la plante (épiderme, assise sous-épidermique), et dans les couches externes du fruit.

Dans les organes végétatifs aériens, on trouve également de l'alcaloïde. Nous avons plus spécialement étudié le *pédoncule floral*, au moment de l'apparition des fleurs. On monte les coupes dans l'eau, et l'on fait arriver sous la lamelle l'*iodure de potassium iodé*. On trouve un précipité très net et intense dans l'épiderme et les assises sous-épidermiques, un léger précipité dans les cellules du collenchyme sous-épidermique, dans le liber; quelques cellules du parenchyme ligneux, peu faciles à distinguer, donnent les réactions des alcaloïdes. On ne trouve rien dans l'endoderme, qui est ici très visible, grâce à son contenu amylofère. Par contre, les cellules de bordure des canaux sécréteurs renferment de l'alcaloïde (Pl. XIII, 2).

Si l'on répète cette localisation sur une tige fructifiée, on voit que le précipité dû au principe actif est encore très net dans l'épiderme des pédoncules des ombellules, moins accentué dans le pédoncule de l'ombelle et nul dans la tige florale.

Dans le *fruit*, la présence d'alcaloïde dans les cellules de l'épicarpe et les poils papilleux n'est pas douteuse, contrairement aux opinions de HERDER et de BARTH.

#### TERNSTRÆMIACÉES

##### Caféine.

La *Caféine*, isolée par RUNGE du Café (*Coffea arabica* L.), existe aussi dans d'autres végétaux, tels que le Thé (*Thea viridis* L.), le Maté (*Ilex paraguayensis* St.-H.), les graines de *Paullinia sorbilis* Mart. et de *Cola acuminata* R. Br. et aussi dans une Nyctaginée brésilienne, le *Neea theifera* CErstedt.

**Méthodes de localisation.** — L'étude microchimique de la caféine a déjà fait l'objet de nombreux travaux, parmi lesquels nous citerons ceux

de SCHIMPER (<sup>1</sup>), pour qui la localisation microchimique de la caféine n'est pas possible.

En 1891, MOLISCH (<sup>2</sup>) indique deux méthodes pour la caractérisation de cet alcaloïde au microscope, mais il ne peut, par ses procédés, déterminer exactement l'endroit où il se trouve situé. Ce ne sont donc pas de véritables localisations.

1° La première méthode consiste à déposer, sur une lame porte-objet, une ou plusieurs coupes dans une goutte d'acide chlorhydrique concentré. Après une minute, on ajoute une goutte de chlorure d'or à 3 p. 100. Dès que le liquide commence à s'évaporer, on voit apparaître sur les bords de la goutte des aiguilles longues, jaunâtres, d'un aspect caractéristique, qui sont constituées par un chloro-aurate de caféine.

2° Dans la seconde méthode de MOLISCH, on place les coupes dans une goutte d'eau distillée et l'on chauffe jusqu'à 100°. On laisse ensuite l'eau s'évaporer entièrement. On verse alors sur la lame une goutte de benzine qui s'empare de la caféine, et, en s'évaporant, laisse un grand nombre de cristaux caractéristiques.

HANAUSECK (<sup>3</sup>), dans des recherches qui suivirent de près celles de MOLISCH, emploie également le chlorure d'or comme réactif. L'auteur fait en outre remarquer qu'il se dépose au bord de la lamelle des cristaux de chlorure d'or présentant une forme particulière, par suite de la cristallisation au sein d'une liqueur chlorhydrique. Ces cristaux peuvent être facilement confondus avec ceux de la combinaison caféinique : ils sont un peu plus gros, un peu plus courts et ne se terminent pas en pointe comme ces derniers.

Ces méthodes sont bien peu exactes et MOLISCH lui-même, dans l'examen du Thé, s'il a pu caractériser la caféine dans les jeunes feuilles, n'a obtenu aucun résultat avec les feuilles adultes qui renferment cependant ce principe.

La recherche microchimique de la caféine a été tentée également par L. GAUCHER (<sup>4</sup>), au moyen de l'iodure de potassium iodé, du ferricyanure de potassium, du molybdate d'ammoniaque, de l'acide phosphomolybdique, du vanadate d'ammoniaque, du tungstate de soude et enfin du chlorure d'or. Sa méthode consiste à traiter les coupes par l'acide chlorhydrique afin d'isoler la caféine de sa combinaison, et à la caractériser par la teinte que prennent, au bout d'un certain temps, les précipités obtenus

1. SCHIMPER : Anleitung z. mikroskopischen Untersuchung d. Nahrungs u. Genussmittel. Iéna, 1886.

2. MOLISCH : Grundriss einer Histochemie der pflanzlichen Genussmittel. Iéna, 1891.

3. HANAUSECK : Zur histochemischen Kaffeinreaction. Zeitschr. d. allg. öster. Apotheker-Vereines, 29, 606-609, 1891.

4. L. GAUCHER : De la caféine et de l'acide cafétannique dans le Caféier (*Coffea arabica* L.). Recherches microchimiques. Thèse Montpellier, 1895.

avec le *chloromolybdate d'ammoniaque* <sup>(1)</sup>, l'*acide phosphomolybdique* et le *vanadate d'ammoniaque*. L'auteur reconnaît que, par ces procédés, il n'a pas déterminé la localisation de la caféine au sens que l'on accorde à ce mot. De plus, ces colorations ne sont nullement caractéristiques et il arrive très souvent que, dans la localisation des alcaloïdes, on observe de telles réactions sans que l'on puisse en tirer aucune conclusion. Elles sont simplement la preuve d'une réduction des réactifs, que diverses substances organiques peuvent tout aussi bien produire que les alcaloïdes.

Ces réactions microchimiques n'ont donc pas grande valeur et ont d'ailleurs amené l'auteur à admettre que la jeune plante de *Coffea*, non encore pourvue de chlorophylle, ne renferme pas de caféine. Cette conclusion a été depuis reconnue inexacte par CLAUTRIAU.

Dans un travail récent, H. BEHRENS <sup>(2)</sup> recommande, comme réactifs permettant la recherche microchimique de la caféine : le *chlorure mercurique* et le *nitrate d'argent* en solution nitrique.

Pendant son séjour à Buitenzorg, CLAUTRIAU <sup>(3)</sup> essaya en vain de déterminer la localisation de la caféine dans le Caféier et le Thé. Il obtenait bien des précipitations de l'alcaloïde dans les cellules, mais généralement ces précipités n'étaient pas seuls; d'autres les accompagnaient; ils pouvaient prêter à confusion, et empêchaient de se rendre compte de la marche de la précipitation de la caféine. « Il eût fallu, dit-il, pouvoir vérifier ces précipitations par une réaction colorée, mais cette réaction ne se produit pas dans les tissus, non pas à cause d'une trop faible quantité de substance, ainsi que le pensent certains auteurs, mais par suite de la présence des matières organiques.

Dans un précédent travail <sup>(4)</sup>, après avoir rappelé les différentes réactions qui pouvaient être employées pour la localisation de la caféine, et avoir fait remarquer que les méthodes consistant à précipiter ce composé dans les cellules au moyen de réactifs appropriés n'avaient donné aucun résultat, nous avons eu recours aux réactions colorées.

Evaporée à siccité avec un oxydant énergique tel que l'acide azotique, l'eau de chlore ou de brome, la caféine laisse un résidu jaune rougeâtre qui, au contact de l'ammoniaque, prend une belle coloration violette. Cette réaction se produit difficilement en présence de matières organiques. Si l'on fait la réaction avec de l'eau de chlore, la proportion d'eau de chlore ne doit pas dépasser deux à trois fois celle de la caféine. Ajoutons encore

1. On obtient ce réactif en saturant une solution de chlorhydrate d'ammoniaque avec du molybdate d'ammoniaque.

2. H. BEHRENS : *Anleitung zur mikrochemischen Analyse der wichtigsten organischen Verbindungen*, 4, 14, 1897.

3. G. CLAUTRIAU : *Nature et signification*. *Loc. cit.*, 55.

4. A. GORIS : *Recherches microchimiques*. *Loc. cit.*, 118.

qu'un excès d'ammoniaque empêche la réaction de se produire <sup>(1)</sup>. On peut, en suivant bien ces conditions, obtenir une réaction avec 0,000025 et même 0,00001 de caféine (DRAGENDORFF).

La réaction colorée avec l'acide azotique comme oxydant ne nous ayant donné aucun résultat, nous avons alors employé l'eau de chlore, en tenant compte de la remarque faite par DRAGENDORFF. Les coupes sont, au préalable, plongées dans l'eau additionnée d'acide chlorhydrique et disposées sur une lame avec quelques gouttes d'une solution chlorée renfermant : eau de chlore saturée, cinq gouttes, et eau, 2 centimètres cubes. On chauffe légèrement la lame et on laisse ensuite la solution s'évaporer à l'air libre. La préparation prend peu à peu une teinte brunâtre; on la recouvre d'une lamelle et on dispose sur le bord une goutte d'ammoniaque très diluée. Par capillarité, la solution ammoniacale arrive bientôt au contact de la coupe, et, en suivant la réaction au microscope, on voit certaines cellules prendre une teinte rouge foncé qui, par diffusion, colore peu à peu toute la préparation.

Cette réaction semblerait attribuable à la caféine. Elle se produit avec les feuilles du *Coffea*, du *Thea sinensis*, et les graines de *Cola acuminata* R. Br. Nous verrons qu'elle est due à la présence des tanins. Nos recherches concernant la localisation de la caféine furent donc infructueuses.

Depuis, nous avons pu isoler de la Kola des composés cristallisés : la *Kolatine-Caféine* et la *Kolatéine-Caféine* <sup>(2)</sup>, combinaisons dissociables comme tous les sels de caféine. La *Kolatine* et la *Kolatéine* sont des corps analogues, sinon identiques, aux catéchines et, par conséquent, voisins des tanins. Il semble donc suffisant, pour étudier la localisation de la caféine dans la noix de Kola, d'y rechercher les composés tanniques.

Si, dans le Thé et le Café, la caféine se trouve — et cela est très vraisemblable — combinée aux substances tanniques, la localisation de cet alcaloïde sera ainsi simplifiée. Les réactions que nous avons obtenues avec l'eau de chlore s'expliqueront également de ce fait.

De son côté, SUZUKI <sup>(3)</sup> prétend être arrivé à un résultat satisfaisant pour la localisation de la caféine dans les feuilles de Thé. L'acide phosphotungstique et l'iodure de potassium iodé ne lui ayant donné que de médiocres résultats, il emploie les méthodes suivantes :

1. La coloration disparaît surtout en présence de l'eau, aussi faut-il employer les vapeurs ammoniacales pour réussir la réaction.

2. A. GORIS : Sur un nouveau principe cristallisé de la kola fraîche. *C. R. Ac. Sc.*, **144**, 1162, 1906; *Bull. Sc. Pharm.*, **14**, 203-216, 1907.

A. GORIS : Sur un second composé cristallisé de nature phénologique retiré de la kola fraîche ou stabilisée. *Bull. Sc. Pharm.*, **18**, 138-140, 1911.

3. SUZUKI : On the localization of theine in the Tea leaves. *Bull. Coll. Agric. Tokyo*, **4**, 297-298, 1901.

1° Une section de la feuille est abandonnée deux jours dans une *solution de tannin* à 3-4 p. 100. Il se forme un volumineux précipité dans les cellules épidermiques, consistant en globules menus, tandis que les autres éléments de la feuille ne présentent qu'un léger trouble. Ce précipité, soluble dans l'ammoniaque diluée, est du tannate de caféine;

2° Si l'on place une coupe dans une *solution de théine* à 5 p. 100, il y a formation dans les cellules du tissu parenchymateux et palissadique, de nombreux protéosomes. Par contre, aucun protéosome n'est observé dans les cellules épidermiques. Ainsi donc, pour Suzuki, la caféine serait entièrement située dans l'épiderme de la feuille de Thé.

Sans mettre en doute les résultats de l'auteur japonais, nous croyons cependant que la localisation de la caféine est loin d'être définitivement établie et que des recherches nouvelles sur ce point ne seraient pas inutiles.

### LOGANIACÉES

#### 1. — Strychnine et Brucine.

En 1818, PELLETIER et CAVENTOU retirèrent des écorces et des graines de diverses espèces de *Strychnos* deux alcaloïdes, auxquels ils donnèrent le nom de *Strychnine* et de *Brucine*.

La formule de la *Strychnine* est  $C^{21}H^{22}Az^3O^3$ . C'est un composé peu soluble dans l'eau, l'alcool absolu et l'éther, plus soluble dans l'alcool faible, la benzine et le chloroforme.

La *Brucine* a pour formule  $C^{33}H^{36}Az^3O^4$ . On la considère comme un dérivé diméthoxylé de la strychnine. Elle est plus soluble dans l'eau froide que ce dernier alcaloïde, facilement soluble dans l'alcool, assez soluble dans le chloroforme, la benzine, peu soluble dans l'éther.

**Caractères microchimiques.** — Les réactifs que l'on emploie pour la recherche microchimique de la *strychnine* sont les suivants :

1° L'*iodure de potassium iodé* : précipité brun kermès, soluble dans l'hyposulfite de soude;

2° L'*iodure de mercure et de potassium* : précipité blanchâtre;

3° L'*acide phosphomolybdique* : précipité jaunâtre;

4° L'*acide sulfurique* et le *bichromate de potasse* ou le *chlorate de potasse* : coloration violette;

5° L'*acide sulfurique* et le *sulfate de cérium* : coloration violette. Ce réactif ne colore la brucine que faiblement, et la coloration produite ne masque pas la réaction de la strychnine;

6° L'*acide sulfurique* et le *vanadate d'ammonium* : coloration violette;

7° L'*acide sulfurique* et l'*acide iodique* : coloration violette;

8° L'*acide sulfurique* et le *bioxyde de plomb* : coloration bleue passant au violet, puis au rouge, et finalement au jaune;

9° Le *chlore* précipite la strychnine en blanc.

Les réactifs de la *brucine* sont :

1° L'*iodure de potassium iodé*, qui donne un précipité brun kermès, soluble dans l'*hyposulfite de soude*;

2° L'*iodure de mercure et de potassium* : précipité blanchâtre;

3° L'*acide sélénique nitreux* : coloration rouge orangé;

4° L'*acide azotique* donne, avec la brucine, une coloration rouge sang très intense, qui devient d'un beau violet par addition de *chlorure stanneux*. La strychnine ne présente pas cette réaction et l'on peut ainsi différencier les deux alcaloïdes. La coloration de la brucine par l'acide azotique est des plus sensibles : on peut ainsi caractériser 2 centièmes de milligramme dans un litre d'eau;

5° Le *chlore* colore en jaune, puis en rouge sang, une solution de brucine;

6° L'*acide phosphomolybdique* donne un précipité jaunâtre.

**Méthodes de localisation.** — La localisation de la strychnine et de la brucine a tout d'abord été étudiée par O. LINDT (\*).

Pour la recherche de la strychnine, l'auteur fait macérer les coupes dans l'éther de pétrole, puis l'alcool.

Selon lui, le premier liquide enlève les matières grasses, le second la brucine (?) On porte alors les coupes dans l'acide sulfurique additionné de sulfate de cérium; on obtient ainsi une coloration bleu violet de toutes les parties où se trouve l'alcaloïde.

Pour la localisation de la brucine, les coupes, après macération dans l'éther de pétrole, sont traitées par l'acide azotique additionné de séléniat de sodium. Il se développe alors une coloration rouge écarlate, qui devient peu à peu orangé jaune.

Cette localisation différentielle de la brucine et de la strychnine, a été reprise ces temps derniers par L. SAUVAN (\*\*), en se basant sur la réaction suivante : la strychnine s'unit au bichromate de potasse pour donner un sel insoluble; dans les mêmes conditions, la brucine forme un composé soluble. Il suffit de débarrasser les coupes de la brucine par une série de lavages au bichromate de potasse. La strychnine est précipitée dans la cellule; on porte alors les coupes dans l'acide sulfurique additionné de bichromate; la coloration violette apparaîtra aussitôt.

1. O. LINDT : Ueber d. mikrochem. Nachweis von Brucin u. Strychnin. *Zeitsch. f. wiss. Mikrosk.* 1, 237-240, 1884.

2. L. SAUVAN : Recherches sur les localisations de la brucine et de la strychnine dans les semences de *S. Nux-vomica*, *S. Ignatii*, *S. Gaultheriana*. *Journ. Pharm. Chim.* (6° s.), 1, 496-498, 1895.

L. SAUVAN : Localisation des principes actifs dans les végétaux. *Journ. Bot.*, 40, 126-140, 157-162, 1896.

Pour rechercher la brucine, on aura recours à la réaction de l'acide nitrique concentré, qui donne une coloration rouge. De plus, pour caractériser ce produit de façon à ne laisser aucun doute, on peut, après avoir traité la coupe par une goutte d'acide nitrique seulement, chauffer la préparation jusqu'à décoloration presque complète et évaporation de l'excès d'acide. A ce moment, on ajoute une ou deux gouttes d'une solution chlorhydrique de chlorure stanneux pour obtenir la coloration violette caractéristique de la brucine.

ROSOLL <sup>(1)</sup> s'était servi d'un procédé analogue pour la localisation de la strychnine. Il plongeait ses coupes dans l'acide sulfurique, puis dans une solution de bichromate de potasse et obtenait ainsi la coloration violette caractéristique.

GEROCK et SKIPARI <sup>(2)</sup> opèrent d'une façon toute différente et emploient les réactifs précipitants. Ils laissent les coupes très minces dans le réactif de Mayer pendant quelques heures, jusqu'à ce qu'elles prennent un aspect blanchâtre, ou jaunâtre dans les coupes plus épaisses. On les lave et on les plonge dans une solution d'hydrogène sulfuré; la préparation devient brune, puis noire; on lave rapidement et on examine en glycérine.

CLAUTRIAU <sup>(3)</sup>, BARTH <sup>(4)</sup> emploient comme réactif l'iodure de potassium iodé, additionné de carbonate d'ammoniaque.

HERDER précipite les alcaloïdes par l'iodure de calcium et de mercure et, sur les coupes ainsi traitées et lavées à l'eau, il fait réagir l'acide sulfurique et le bichromate de potasse. Le précipité d'alcaloïdes, qui au début était peu visible, est alors facile à localiser.

La méthode de LINDT est à rejeter; elle est inexacte et a d'ailleurs conduit son auteur à des interprétations erronées <sup>(5)</sup>. ERRERA, MAIS-

1. ROSOLL : Ueber den mikrochemischen Nachweis der Glycoside und der Alkaloïde in den vegetab., Geweben. *Jahresb. der niederösterreich. Landesrealgymnasiums zu Stockerau*, 25, 1889-1890.

2. GEROCK et SKIPARI : Ueber den Sitz der Alkaloïde in Strychnosamen. *Arch. d. Pharm.*, 230, 555-560, 1892.

3. G. CLAUTRIAU : Localisation et signification des alcaloïdes dans quelques graines. *Ann. Soc. belge Microsc.*, 18, 45, 1894; *Recueil Inst. Bot.* ERRERA, 2, 273, 1906.

4. H. BARTH : Studien über den mikrochem. Nachweis von Alkaloïde in Arzneimitteln. *Dissert.*, Zurich, 47-56, 1898.

5. N. B. O. LINDT prétend que la strychnine et la brucine sont localisées dans les membranes cellulaires de l'endosperme et principalement dans les membranes les plus épaisses. Cette opinion a été combattue par ROSOLL, CLAUTRIAU, BARTH, GEROCK et SKIPARI et enfin par SAUVAN et TUNMANN <sup>(\*)</sup>. Lorsqu'on effectue la localisation des alcaloïdes par la méthode GEROCK et SKIPARI, le lumen des cellules est parsemé d'une substance granuleuse noire; les membranes, au contraire, restent claires. Avec un bon éclairage on peut voir, à un fort grossissement, les canalicules établissant

(\*) TUNMANN : Ueber die Alkaloïde in Strychnos *Nux-vomica*. *Arch. d. Pharm.*, 248, 644-657, 1910.

TRIAU, CLAUTRIAU en ont d'ailleurs fait une critique judicieuse. Ils ont fait remarquer que la strychnine, insoluble *in vitro* dans l'éther de pétrole, peut très bien s'y dissoudre, à la faveur de la matière grasse de la graine. D'autre part, il n'est pas démontré que les alcaloïdes se trouvent à l'état de bases dans les semences de *Strychnos*; ils semblent, au contraire, s'y trouver à l'état de sels de l'acide igasurique. Si la strychnine est insoluble dans l'alcool, il n'en est pas de même de ses sels; par contre, les sels de brucine sont insolubles dans l'éther.

**Répartition de la Strychnine dans le *S. Nux-vomica* L., et le genre *Strychnos*.** — Cette répartition a été étudiée par L. SAUVAN sur des graines de *S. Nux vomica* L. dont il a pu suivre le développement pendant plus de deux ans.

*Racine.* — Le point végétatif renferme de l'alcaloïde dans tous les éléments, mais, après la différenciation des tissus, on ne caractérise plus la strychnine qu'en dehors du cylindre central. Dans la racine plus âgée, l'alcaloïde se trouve principalement dans le parenchyme cortical; le liber en renferme relativement peu.

*Tige.* — La répartition est la même que dans la racine, mais les réactions sont plus intenses. L'épiderme ne donne aucune réaction.

*Feuille.* — Dans les feuilles cotylédonaire, toutes les cellules épidermiques et parenchymateuses se colorent sous l'action des réactifs, et la membrane cellulaire renfermerait aussi de la strychnine. Dès que ces feuilles sont complètement développées et devenues vertes, la strychnine est presque entièrement localisée dans les deux épidermes. Le parenchyme foliaire n'en renferme plus que des traces. Lorsque les feuilles cotylédonaire se détachent, elles ne renferment plus d'alcaloïde.

Les feuilles végétatives contiennent de la strychnine dans toutes les cellules du parenchyme foliaire et dans le liber des nervures.

*Graine.* — Dans toutes les cellules de l'albumen, de l'embryon, et toujours à l'intérieur de ces éléments. La strychnine semblerait se trouver au centre de l'albumen; la brucine, au contraire, se localiserait plus spécialement dans les parties externes.

Chez *S. Gaultheriana* Pierre, *S. Ticuti* Lesch., *S. Glaucinia* Pierre, *S. colubrina* L., *S. Ignatii* Berg., *S. minor* Blume, *S. ligustrina* Blume,

les communications protoplasmiques entre deux cellules également remplies de petites granulations noirâtres. Après action de l'alcool tartrique, la réaction ne se produit plus.

Le fait de trouver l'alcaloïde dans les plus petits canalicules de la membrane n'expliquerait-il pas le résultat indiqué par O. LINDT? Sa réaction colorée se produirait dans ces canalicules et semblerait alors provenir de la membrane même.

On peut aussi expliquer l'erreur de O. LINDT en admettant que les macérations répétées dans l'éther de pétrole et l'alcool ont pu dissoudre une partie des alcaloïdes qui serait alors fixée sur les membranes.

*S. Icaja* Baill., la répartition de la strychnine est identique à celle que nous venons de signaler dans le *S. Nux-vomica* L.

**Répartition de la Brucine dans le *S. Nux-vomica* L.** — La brucine a été localisée par l'action de l'acide azotique, contrôlée par celle du chlorure stanneux.

Ce dernier alcaloïde accompagne toujours la strychnine dans les cellules du *S. Nux-vomica* L. Toutefois, l'épiderme de la tige et de la feuille, qui est exempt de strychnine, semblerait renfermer un peu de brucine. Cet alcaloïde serait surtout abondant dans les éléments libériens. Enfin, l'épiderme des feuilles cotylédonaire qui est riche en strychnine, ne renfermerait pas de brucine; cet alcaloïde n'existerait qu'en petite quantité dans le parenchyme foliaire, et dans le liber des faisceaux.

Dans la graine, la brucine est, nous l'avons vu, située dans la portion externe de l'albumen; les cellules internes n'en renferment presque pas.

Les différents *Strychnos* cités plus haut se comportent de la même façon que le *S. Nux-vomica* L., vis-à-vis des réactifs de la brucine.

Les résultats de HERDER sont différents de ceux obtenus par L. SAUVAN.

Pour l'auteur allemand, la réaction de la brucine serait surtout intense dans le liège et le parenchyme sous-jacent; tandis que la réaction de la strychnine serait plus nette dans les rayons médullaires et dans la région ligneuse.

Cet auteur n'aurait pas trouvé d'alcaloïde dans les feuilles.

**Variation des alcaloïdes au cours de la végétation.** — L. SAUVAN a remarqué que les assises sous-épidermiques de la tige, qui contiennent des corps chlorophylliens, sont plus riches en strychnine que les éléments correspondants de la racine, mais, dès que les chloroleucites viennent à disparaître, la proportion d'alcaloïdes diminue dans la tige et se rapproche de celle de la racine. La formation de la strychnine serait donc en relation avec la fonction chlorophyllienne.

Dans un végétal se développant à l'abri de la lumière, la strychnine et la brucine disparaissent peu à peu. Si l'étiollement n'est pas parfait, la strychnine disparaît plus rapidement que la brucine dans les organes privés de chlorophylle (racine et tige en partie), tandis qu'au contraire dans les organes renfermant encore des corps chlorophylliens (feuille, tige en partie), la brucine disparaît plus rapidement que la strychnine (1). Dans des pieds de *Strychnos* étiolés dès la germination des graines, les deux alcaloïdes disparaissent peu à peu et en même temps, pour ne plus exister bientôt dans la plante. Cette disparition est d'autant plus rapide

1. N. B. — On pourrait se demander si la différence observée ne serait pas due au fait que les réactions microchimiques ne sont pas de la même sensibilité vis-à-vis de la brucine et de la strychnine.

que la température est plus élevée et l'atmosphère plus humide. Il faut plusieurs mois pour arriver à la disparition totale des alcaloïdes.

## 2. — Gelsémine.

La *Gelsémine* ( $C^{24}H^{38}Az^2O^4$ ), retirée du *Gelsemium sempervirens* Ait., est un corps peu soluble dans l'eau, très soluble dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, l'éther de pétrole, la benzine et le sulfure de carbone. Elle existe à côté d'un autre alcaloïde, la *Gelséminine*, de formule  $C^{24}H^{38}Az^2O^4$ , isomère de la gelsémine.

**Caractères microchimiques.** — 1° L'*iodure de potassium iodé* donne un précipité brun kermès, soluble dans l'hyposulfite de soude;

2° L'*iodure double de mercure et de potassium*, un précipité jaunâtre;

3° L'*acide phosphomolybdique*, un précipité jaunâtre;

4° L'*acide sulfurique*, additionné de *bichromate de potasse*, de *sulfate de cérium* ou de *vanadate d'ammoniaque*, donne une coloration rouge cerise. Cette dernière réaction n'est pas toujours très nette dans les tissus de la plante, à cause de la présence, soit de l'acide gelsémique, soit de la gelséminine.

**Méthodes de localisation.** — La localisation de cet alcaloïde a été faite par L. SAUVAN<sup>(1)</sup>, M. ELFSTRAND<sup>(2)</sup>, par la méthode d'ERRERA, contrôlée par la précipitation au moyen de l'*acide phosphomolybdique*.

**Répartition de la Gelsémine dans le *Gelsemium sempervirens* Ait. — Racine.** — La gelsémine se trouve localisée dans le liber et les cellules du parenchyme cortical voisines du liber.

**Tige.** — Liber et parenchyme cortical; liber interne et cellules de la moelle bordant les amas libériens. La quantité de gelsémine est moins grande dans la tige que dans la racine.

**Feuille.** — Le pétiole présente la même répartition que la tige. Le limbe foliaire contient une faible quantité de gelsémine, localisée dans le parenchyme chlorophyllien.

Les feuilles contiendraient en outre un alcaloïde différent de la gelsémine. Les réactions colorées sont nulles dans les cellules épidermiques, et faibles dans les cellules du parenchyme chlorophyllien. Par contre, on obtient dans ces mêmes éléments un abondant précipité par l'*iodure de potassium iodé* ou par l'*iodure de mercure et de potassium*. L'auteur croit pouvoir conclure à la présence d'un second alcaloïde dans les feuilles du *Gelsemium sempervirens* Ait. Cet alcaloïde pourrait être la gelséminine, qui n'existerait, si l'on se base sur les réactions microchimiques, qu'en faible quantité dans la tige et dans la racine.

1. L. SAUVAN: *Loc. cit.*, *Journ. bot.*, 127-134.

2. ELFSTRAND: *Loc. cit.*, 91-94.

## 3. — Curarine.

La Curarine a été isolée du Curare en 1830, par ROULIN et BOUSSINGAULT. C'est un composé encore peu connu, dont la composition n'est pas définitivement établie.

La curarine est soluble dans l'eau, l'alcool, l'éther, la benzine, l'essence de térébenthine, le sulfure de carbone. Elle est peu soluble dans l'alcool amylique et le chloroforme. Elle donne des sels difficilement cristallisables et très déliquescents.

**Caractères microchimiques.** — Les réactifs de ce composé sont les suivants :

- 1° L'iodure de potassium iodé : précipité brun kermès soluble dans l'hyposulfite ;
- 2° L'iodure de mercure et de potassium : précipité jaunâtre ;
- 3° L'acide nitrique concentré : coloration rouge sang ;
- 4° L'acide phosphomolybdique : précipité jaunâtre ;
- 5° Le réactif d'ERDMANN : coloration rouge violacé ;
- 6° L'acide sulfurique concentré ou étendu : coloration rouge carmin ;
- 7° L'acide sulfurique, additionné de bichromate de potasse ou de sulfate de cérium ou bien encore de vanadate d'ammoniaque : coloration violette.

**Répartition de la Curarine dans divers *Strychnos*.** — L. SAUVAN<sup>(1)</sup> a étudié la répartition de la curarine dans les *Strychnos triplinervia* Mart., *S. Castelnovana* Baill., *S. toxifera* Benth., *S. Gubleri* G. Plan., *S. Crevauxii* G. Plan., *S. guianense* Aubl., *S. yapurensis* G. Plan., *S. pedunculata* Benth., *S. Schomburgkiana* Klotzsch., *S. cogens* Benth.

**Racine.** — La curarine se trouve à l'intérieur des cellules du parenchyme et dans les éléments du liber.

**Tige.** — La répartition est identique à celle de la racine. Les cellules épidermiques de la jeune tige renferment de l'alcaloïde.

**Feuille.** — Le principe toxique a son siège dans toutes les cellules du parenchyme foliaire, dans le liber et les deux épidermes.

## SOLANACÉES

## 1. — Atropine et alcaloïdes voisins.

L'Atropine a été découverte presque simultanément dans la racine de Belladone (*Atropa Belladonna* L.) par GEIGER et HEISSE et par MEIN. Depuis, on a signalé la présence de l'Hyoscyamine à côté de l'atropine dans la Belladone. SCHUTZE montra même, dans des recherches minu-

1. L. SAUVAN : *Loc. cit.*, *Journ. bot.*, 127-134.

tieuses, que les plantes de un à deux ans ne renferment que de l'*Hyoscyamine*, tandis que, dans la racine de Belladone plus âgée, il se trouve un peu d'atropine à côté d'une quantité plus considérable d'hyoscyamine. Dans les fruits jeunes, il n'a pu isoler que de l'hyoscyamine. Les fruits mûrs, chez les plantes sauvages, contiennent uniquement de l'atropine, tandis que les fruits mûrs de plantes cultivées renferment un mélange d'atropine et d'hyoscyamine.

Il semblerait donc que l'hyoscyamine serait l'alcaloïde formé en premier lieu dans la Belladone et qu'il se transformerait peu à peu en atropine. Pendant l'extraction de ce produit, la même transformation pourrait se faire sous l'action des réactifs et des différents traitements que l'on fait subir à la plante. Cela n'a rien d'extraordinaire, puisque l'atropine est un isomère racémique de l'hyoscyamine.

A côté de ces alcaloïdes, il n'est pas douteux qu'il existe un autre corps également très vénéneux, car KRATTER a montré que les feuilles de Belladone sont beaucoup plus nocives que la dose d'alcaloïde mydriatique qui s'y trouve contenue.

KUNZ, puis PASCHKIS ont en effet isolé, sous le nom d'*acide Chrysatropique*, une substance fluorescente que l'on rencontre également dans l'*Hyoscyamus niger* L. et le *Scopolia japonica* Maxim. PASCHKIS la considère comme identique à la *Scopolétine* et trouve que ses réactions sont celles des tanins : précipité vert par le *perchlorure de fer*, précipité bleu par le *chlorure d'or*. Est-ce ce composé qui rend les feuilles de Belladone plus toxiques que la quantité d'alcaloïdes qui s'y trouve contenue ? Rien ne peut actuellement le faire admettre. Mais il était important de signaler que, dans les cellules renfermant l'alcaloïde, on trouve un corps donnant toutes les réactions du tanin. MÖLLE, dans son intéressant travail sur la localisation des alcaloïdes des Solanées, n'a eu garde d'oublier ce point.

Dans la Belladone et dans le groupe des Solanacées voisines, on a trouvé, en petite quantité, d'autres alcaloïdes : la *pseudo-Hyoscyamine*, l'*Hyoscine*, l'*Atropamine*, la *Belladonine*, la *Scopolamine*, l'*Atroscine*, qui présentent toutes des relations très étroites avec l'atropine et l'hyoscyamine.

Les méthodes de localisation ne permettent pas de séparer ces alcaloïdes, et le résultat que l'on obtiendra dans la localisation se rapportera à ces alcaloïdes en bloc et non particulièrement à l'*Atropine*.

L'*Atropine* est peu soluble dans l'eau froide, assez soluble dans l'éther, la benzine. Ses meilleurs dissolvants sont l'alcool, le chloroforme, le toluène. La formule de l'atropine est  $C^{17}H^{23}AzO^3$ . Elle se dédouble, sous l'action des acides, en *acide Tropique* et *Tropine*. Sa synthèse a été réalisée dans ces dernières années par WILSTÄETTER.

Les propriétés de l'*Hyoscyamine* offrent la plus grande ressemblance avec celles de l'atropine. Elle est très soluble dans l'alcool, moins soluble

dans l'éther, un peu plus dans l'eau. Dans certaines conditions elle se transforme en atropine.

**Caractères microchimiques.** — Des nombreuses réactions de l'atropine, nous ne retiendrons que celles qui pourront nous être d'une certaine utilité dans la recherche de ce composé :

1° Le *tanin* produit un précipité blanc, soluble dans l'acide chlorhydrique ;

2° L'*iodure de potassium iodé* provoque la formation d'une huile brune, puis d'un précipité brun kermès qui se transforme peu à peu en cristaux étoilés à aspect métallique ; la chaleur favorise la formation des cristaux ;

3° L'*iodure double de mercure et de potassium* donne un précipité caséux blanc ;

4° L'*iodure double de bismuth et de potassium* donne un précipité orangé amorphe ;

5° L'*acide picrique* donne un précipité jaune cristallin dans les solutions concentrées ;

6° Le *chlorure de platine* donne un précipité jaune violet ;

7° Le *chlorure d'or* donne un précipité jaune qui cristallise à la longue ;

8° L'*acide phosphomolybdique*, l'*acide phosphotungstique* donnent un précipité jaune clair, devenant verdâtre ;

9° L'*eau de brome* donne des cristaux jaunâtres ;

10° L'atropine évaporée à siccité avec de l'*acide nitrique* fumant, puis humectée avec une solution de *potasse* caustique dans l'alcool absolu, donne une coloration violette qui passe rapidement au rouge (VITALI) ;

11° Le *bichlorure de mercure* provoque la formation de gouttelettes d'huile se transformant peu à peu en cristaux tabulaires.

Nous avons vu les relations étroites qui existent entre l'atropine et l'hyoscyamine : elles ne diffèrent que par leur pouvoir rotatoire. Les réactions permettant la localisation de l'hyoscyamine sont identiques à celles de l'atropine :

1° L'*iodure de potassium iodé* donne immédiatement un précipité brun kermès ;

2° L'*iodure de mercure et de potassium*, un précipité caséux blanc ;

3° Le *bichlorure de mercure*, une huile se solidifiant en cristaux tabulaires ;

4° Le *tanin*, un précipité blanc dans les solutions concentrées ;

5° L'*acide picrique*, un précipité jaune cristallin dans les solutions concentrées ;

6° La seule réaction distinctive semblerait être la *non précipitation par le chlorure de platine*.

**Méthodes de localisation.** — La recherche microchimique de l'atro-

pine a été faite dans les différentes plantes qui en contiennent. DE WÈVRE<sup>(1)</sup>, (sauf dans la graine), P. ANEMA<sup>(2)</sup> et MOLLE<sup>(3)</sup> (dans la plante entière), CLAUTRIAU<sup>(4)</sup>, BARTH<sup>(5)</sup>, VAN DYCK<sup>(6)</sup> (dans la graine exclusivement), se sont occupés de l'*Atropa Belladonna* L.

MOLLE, CLAUTRIAU, BARTH se sont occupés du *Datura Stramonium* L. et de l'*Hyoscyamus niger* L., et MOLLE du *Scopolia japonica* Maxim.

Dans leurs recherches, les différents auteurs ont utilisé l'action de l'iodure de potassium iodé et de l'acide phosphomolybdique. Dans ces conditions, ils localisent à la fois l'atropine et l'hyoscyamine. Mais, comme nous avons vu que les deux alcaloïdes sont très voisins, il n'y a à cela aucun inconvénient.

L'iodure de potassium iodé provoque dans les cellules à alcaloïdes de l'*Atropa Belladonna* L., la formation de sphérules brunes à reflets bleuâtres qui, peu à peu, se transforment en cristaux étoilés d'aspect métallique. Dans certaines cellules épidermiques, le précipité revêt un autre aspect : il prend la forme de sphérules qui naissent tout d'abord incolores, sont agitées d'un mouvement brownien, et se fusionnent en sphères plus volumineuses. Il est probable que ces éléments renferment, en même temps qu'un alcaloïde, une certaine quantité d'acide chrysotropique, car ils fournissent aussi les réactions des tanins (MOLLE). C'est ce que semblerait prouver l'action du chlorure d'or : il donne d'abord un précipité jaune pâle, qui est réduit rapidement et colore le suc cellulaire en bleu.

L'acide phosphomolybdique donne naissance à un précipité jaune très facile à observer, insoluble dans l'ammoniaque.

BARTH n'accorde pas grande confiance à ce réactif ; par contre, l'eau de brome lui a donné, dit-il, de bons résultats.

Les autres réactifs que nous avons indiqués ne donnent pas de résultats satisfaisants, du moins pour les organes aériens.

Il faut naturellement contrôler, sur des coupes débarrassées de l'alcaloïde par un séjour dans l'alcool tartrique, les diverses réactions obtenues.

**Répartition de l'alcaloïde dans l'*Atropa Belladonna* L. — Racine.**

1. DE WÈVRE : Localisation de l'atropine. *Bull. Soc. belge de Microsc.*, **14**, 19, 1887. *Recueil Inst. bot. ERRERA* **2**, 233-235, 1906.

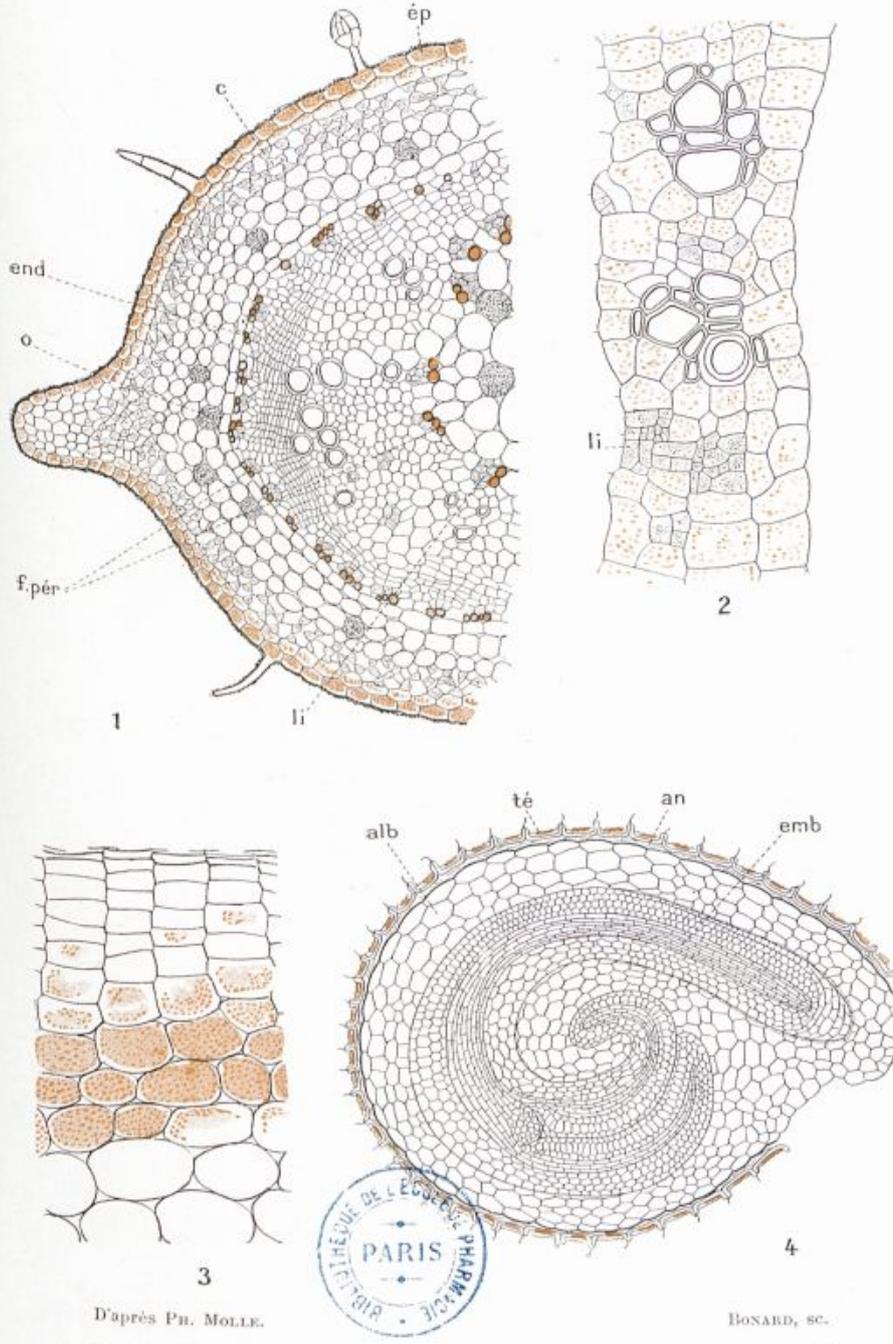
2. P. ANEMA : De zetel der Alkaloïden bij enkele narkotische Planten, Utrecht, 1892 ; analyse : *Jahr. d. Pharm.*, 197-198, 1892.

3. PH. MOLLE : Recherches de microchimie comparée sur la localisation des alcaloïdes dans les Solanacées. *Mémoires couronnés et autres Mémoires publiés par l'Ac. roy. de Belgique*, **43**, 1895. *Recueil Inst. bot. ERRERA*, **2**, 281-336, 1906.

4. G. CLAUTRIAU. Localisation et signification des alcaloïdes dans quelques graines. *Ann. Soc. belge Microsc.* **18**, 35-54, 1891. *Recueil Inst. bot. ERRERA* **2**, 266-269, 1906.

5. H. BARTH. Studien über den mikroschem. Nachweis von Alkaloiden in Arzneidrogen. *Arch. d. Pharm.*, **236**, 354-357, 1896. *Dissert. Zurich*, 25-28, 1898.

6. E. B. VAN DYCK : Phytochemische onderzoekingen over alkaloiden in verband met het Kiemen, Utrecht, 1900.



1, tige de Solanée. *Atropa Belladonna* L. ; 2, parenchyme ligneux de la racine ;  
3, assises subéreuses de la tige. *Datura Stramonium* L. ; 4, graine.



— Dans une racine jeune, l'alcaloïde se localise dans l'assise externe et les assises sous-jacentes, et dans quelques cellules du parenchyme cortical. Le cylindre central, durant la période de la structure primaire, en est totalement dépourvu ; mais, dès que le cambium a fonctionné, on rencontre l'atropine dans le parenchyme ligneux secondaire. Il n'existe ni dans les vaisseaux, ni dans les îlots libériens intraligneux. Une très grosse racine renferme proportionnellement beaucoup moins d'alcaloïde, et celui-ci se trouve alors surtout situé dans les assises les plus externes. (Pl. XIV, 2).

D'après MOLLE<sup>(1)</sup>, il y aurait aussi de l'alcaloïde dans la coiffe.

*Tige.* — Le point végétatif de la tige ne donne qu'une réaction faible, indiquant la présence d'atropine en petite quantité. A un stade un peu plus avancé, cette base est uniquement située dans l'écorce et la moelle ; mais, dès que les tissus sont complètement différenciés, l'alcaloïde se trouve surtout dans l'épiderme et les assises sous-épidermiques, dans le parenchyme cortical au voisinage du liber externe et dans le parenchyme médullaire touchant au liber interne. Il y en a, naturellement, toujours dans le parenchyme cortical et la moelle, mais en petite quantité. D'après MOLLE, il y en aurait dans les fibres péricycliques et médullaires (*stéréides*).

Lorsque le liège a pris naissance, ses deux ou trois rangées de cellules les plus internes sont riches en alcaloïdes (Pl. XIV, 3).

Les vaisseaux, les tubes criblés, les cellules annexes, ne renferment pas de principe actif.

Lorsque la tige vieillit, il est difficile d'obtenir une réaction intense et, aux approches de l'hiver, la plante est pauvre en alcaloïde.

Nous ne partageons pas entièrement l'opinion de MOLLE sur la répartition de l'alcaloïde dans les Solanées. Nous ne croyons pas à la présence d'alcaloïdes dans les fibres péricycliques et médullaires. En effet, si l'on fait des coupes longitudinales tangentielles dans une tige de Belladone, de façon à intéresser surtout la partie périphérique de la moelle, voici ce que l'on observe (Pl. XV) :

Dans les fibres pérимédullaires, on trouve un précipité jaunâtre continu : c'est la masse protoplasmique qui se colore, ainsi que le noyau encore présent dans ces éléments. Dans les cellules du parenchyme conjonctif avoisinant, il y a un précipité granuleux kermès, dont la couleur tranche sur la coloration des fibres. Ce précipité est dû à l'alcaloïde.

Après action de l'acide tartrique, ce précipité granuleux ne se produit plus, mais on obtient toujours une coloration jaune de la masse protoplasmique des fibres.

1. PH. MOLLE. *Loc. cit.*, 28, 30 du tiré à part. *Recueil Inst. bot. ERRERA, loc. cit.*, 306-312.

Si, dans une coupe primitivement colorée par l'iodure de potassium iodé, on fait passer sous la lamelle l'alcool tartrique ou l'hyposulfite, le précipité kermès disparaît, de même que la coloration des fibres. Mais, si l'on fait à nouveau arriver de l'iodure de potassium iodé, la coloration jaune réapparaît uniquement dans les fibres.

Il est donc difficile de dire s'il y a eu, ou non, enlèvement d'une partie des alcaloïdes dans les fibres. Nous ne pouvons donc confirmer d'une manière absolue l'opinion de MOLLE<sup>(1)</sup>, mais il n'est pas douteux que, si les fibres renferment de l'alcaloïde, ce dernier s'y trouve en quantité extrêmement faible.

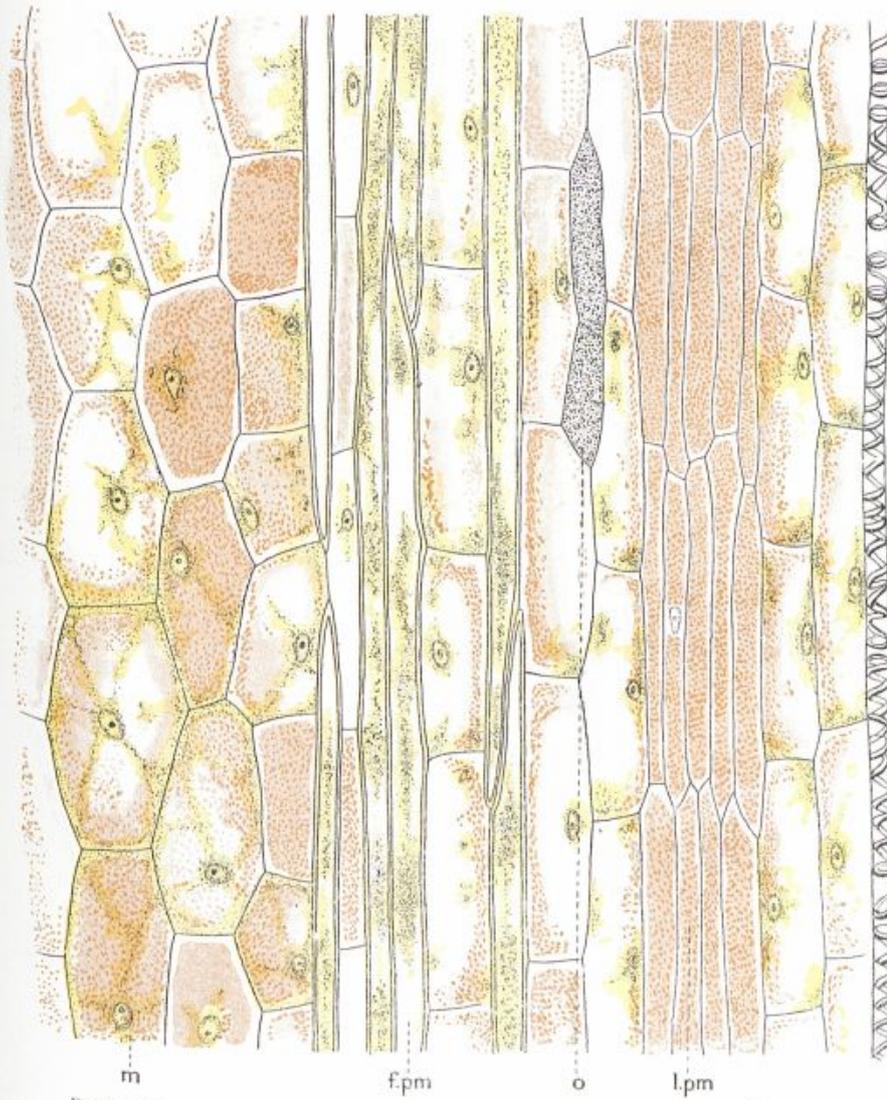
*Feuille.* — Dans le pétiole, la localisation est à peu près identique à celle de la tige. Le limbe paraît contenir des alcaloïdes dans toutes les cellules et autour des faisceaux des nervures ; mais c'est surtout dans l'épiderme inférieur que la localisation est le plus intense. Les poils jeunes donnent un abondant précipité, surtout au voisinage des cloisons transverses. La tête des poils glanduleux ne renferme jamais d'alcaloïdes.

*Organes de reproduction.* — *Sépale et pétale.* La localisation est la même que pour les feuilles. — *Étamine.* On rencontre les alcaloïdes dans les cellules épidermiques et l'endoderme du petit faisceau, dans l'épiderme de l'anthère et l'assise nourricière du pollen (MOLLE). Dans le *pistil*, l'alcaloïde se localise dans tous les éléments du carpelle, et surtout autour des quatre faisceaux où il est plus abondant que dans les régions voisines ; dans le *style*, on le rencontre dans le voisinage des faisceaux. L'assise superficielle de l'ovule donne des précipités intenses avec les différents réactifs ; l'*albumen* et l'*embryon*, au cours de leur formation, en sont totalement dépourvus.

*Graine.* — Contrairement à l'opinion d'ANEMA, l'atropine se trouve dans la graine, mais jamais dans l'albumen ni dans l'embryon<sup>(2)</sup>. Elle existe uniquement dans les couches sous-tégumentaires écrasées qui sont situées entre l'albumen et le tégument externe. La réaction est difficile à observer dans cette assise. Nous indiquerons à l'étude de la graine de *Datura* la méthode suivie par CLAUTRIAU.

**Répartition des alcaloïdes dans l'*Hyoscyamus niger* L.** — L'*Hyoscyamus niger* renferme de l'*Hyoscyamine*, un peu d'*Atropine* et un autre alcaloïde non mydriatique, l'*Hyoscine*, voisin des corps précédents et se dédoublant, sous l'action des alcalis ou des acides, en *acide Tropicque* et *Oscine*. Sa formule est  $C^{17}H^{21}AzO^4$ . Ses réactions sont semblables à celles de l'hyoscyamine et de l'atropine. Les méthodes microchimiques localiseront alors ces trois alcaloïdes qui, vraisemblablement, se trouvent dans les mêmes cellules.

1. PH. MOLLE. *Loc. cit.* 37 (tiré à part). *Recueil Inst. bot.* ERRERA, *loc. cit.*, 314-316.  
2. VAN DYCK prétend également avoir trouvé de l'alcaloïde dans l'albumen.



PIAULT, del.

BONARD, sc.

*Atropa Belladonna* L.; coupe longitudinale de la moelle de la tige, montrant l'absence d'alcaloïdes dans les fibres péri-médullaires (stéréides).





*Tige.* — Épiderme et assises sous-épidermiques, parenchyme cortical, principalement au voisinage du liber, rayons médullaires et périphérie de la moelle. D'après MOLLE, il y en aurait également dans les « stéréides. »

Dans l'épiderme, MOLLE (1) signale aussi, à côté de l'alcaloïde, l'existence d'un composé donnant les réactions des tanins.

*Feuille.* — Les feuilles jeunes sont riches en alcaloïdes, situés dans toutes les cellules du parenchyme, mais principalement dans les épidermes, les poils et les cellules, au voisinage des nervures ; quand elles ont atteint l'âge adulte, on n'y retrouve que fort peu d'alcaloïde dans les épidermes et les poils qui en sont parfois totalement dépourvus. Autour des faisceaux et à leur intérieur, l'alcaloïde se localise comme dans la tige.

*Racine.* — *Fleur.* — La répartition est la même que pour les organes correspondants de la Belladone.

*Graine.* — Dans la graine jeune, les cellules extérieures qui ont déjà épaissi leurs parois internes contiennent encore une assez forte proportion d'alcaloïdes ; il en est de même des cellules sous-jacentes, surtout dans les assises les plus internes en contact avec l'albumen. La graine mûre en conserve dans les tissus écrasés qui constituent le tégument interne. Les observations de CLAUTRIAU, MOLLE, BARTH, sont, à ce sujet, entièrement concordantes.

**Répartition des alcaloïdes dans le *Datura Stramonium* L.** — L'alcaloïde extrait du *Datura Stramonium* L. est, d'après LADENBURG, un mélange d'*Atropinè* et d'*Hyoscyamine* dans lequel cette dernière base domine. La localisation a été étudiée par MOLLE, CLAUTRIAU et BARTH.

*Racine.* — La racine renferme peu d'alcaloïde ; dans les racines encore jeunes, on en trouve dans le liège et le phelloderme et un peu dans l'écorce. À l'endroit du collet, il y en a dans le parenchyme libérien et dans les rayons médullaires.

*Tige.* — Par contre, dans la tige, l'alcaloïde est abondant. On n'en trouve pas dans le point végétatif. On le rencontre surtout dans le collenchyme sous-épidermique, dans le parenchyme cortical, dans les « stéréides » (MOLLE) et dans le tissu libérien. Le jeune liège renferme de l'alcaloïde. Les poils tecteurs en renferment également, surtout dans les deux cellules inférieures.

*Feuille.* — Dans la feuille, c'est dans les épidermes, et surtout dans l'épiderme supérieur, que les réactions sont intenses. Elles se produisent également autour et à l'intérieur du faisceau et, faiblement, dans le mésophylle.

*Fleur.* — Dans les organes floraux, la répartition est semblable à celle que nous avons indiquée pour l'*Atropa* et l'*Hyoscyamus*.

1. Ph. MOLLE. *Loc. cit.*, 48 (tiré à part). *Recueil Inst. bot. ERRERA, loc. cit.*, 325-327.

*Ovule et Graine.* — Si on examine une coupe d'un ovule de *Datura* en voie de développement, quelque temps après la fécondation, on y trouve un embryon très petit entouré d'un albumen réduit ; autour de cet albumen, et à la limite de séparation des téguments de l'ovule, il existe un tissu riche en matières amylacées, en principes albuminoïdiques et alcaloïdiques : c'est l'assise nourricière de l'albumen et de l'embryon. A mesure que l'albumen s'accroît, l'amidon et les matières albuminoïdes disparaissent de cette assise, tandis que l'alcaloïde y persiste. Par suite du grand développement de l'ovule, l'embryon et l'albumen compriment ces cellules contre le tégument externe et, à la maturité, cette assise semble n'être formée que d'une membrane très mince dans laquelle se trouve situé l'alcaloïde, à l'état de sel très soluble dans l'eau. Le moindre lavage suffit, en effet, pour débarrasser la graine de toute trace de composés alcaloïdiques. Dans le *Datura*, cette assise comprend cinq à six couches de cellules, tandis que dans l'*Atropa Belladonna* L. et l'*Hyoscyamus niger* L., elle est beaucoup moins développée (Pl. XIV, 4).

Le meilleur procédé pour obtenir une bonne localisation consiste à placer une coupe de graine, à sec, sur une lame, et à y faire arriver l'iodure de potassium iodé très lentement sous la lamelle ; on suit alors facilement le phénomène. L'assise sous-tégumentaire se gonfle et se remplit d'un précipité brun kermès qui devient parfois cristallin. On peut également employer l'acide phosphomolybdique et l'iodure de mercure et de potassium.

Il faut éviter de plonger les graines dans l'eau ou même dans le réactif iodé, car, ainsi que nous l'avons dit, le sel d'alcaloïde, étant très soluble, diffuse avec la plus grande rapidité et on n'obtient plus une localisation très nette.

L'albumen et l'embryon donnent également un précipité brunâtre dû aux matières protéiques et non à un alcaloïde, car le précipité persiste après action de l'alcool tartrique.

**Répartition des alcaloïdes dans le *Scopolia japonica* Maxim.** — Le *Scopolia japonica* Maxim. renferme de l'*Hyoscyamine*, de l'*Atropine* et de la *Scopolamine* (*Hyoscine*), et aussi de l'acide *Chrysatropique* (*Scopolétine* d'EYCKMANN). La localisation des alcaloïdes a été effectuée par PH. MOLLE<sup>(1)</sup>. Les résultats obtenus par cet auteur sont identiques à ceux signalés pour l'*Atropa Belladonna* L. et l'*Hyoscyamus niger* L.; aussi nous dispenserons-nous de les répéter en détail.

De même que dans ces deux dernières plantes, les alcaloïdes se rencontrent surtout dans l'épiderme, les assises sous-épidermiques, le parenchyme cortical au voisinage du liber, les rayons médullaires, la périphérie de la moelle.

1 PH. MOLLE. *Loc. cit.*, 39 (tiré à part). *Recueil Inst. bot. ERRERA, loc. cit.*, 316.

## 2. — Physaline.

DESSAIGNES et CHAUTARD isolèrent du *Physalis Alkekengi* L. un alcaloïde auquel ils donnèrent le nom de *Physaline* (1852).

**Caractères microchimiques et méthodes de localisation.** — La localisation de cet alcaloïde dans la plante a été obtenue par PH. MOLLE<sup>(1)</sup>.

Les réactifs employés sont :

1° L'*iodure de potassium iodé*, qui donne un précipité jaune brun disparaissant assez vite ;

2° Le *chlorure d'or*, qui donne un précipité jaune pâle ;

3° L'*acide phosphomolybdique*, qui donne un précipité gris jaunâtre.

**Répartition de l'alcaloïde dans le *Physalis Alkekengi* L.** — *Tige*.

— On le rencontre dans le point végétatif, puis, lorsque les tissus sont différenciés, on le trouve dans l'épiderme, les « stéréides » et les éléments parenchymateux allongés, voisins des libers.

*Feuille.* — Chez des feuilles très jeunes, l'alcaloïde est déjà localisé dans l'endoderme amylofère, dans les « stéréides » et les éléments voisins et dans les épidermes. Ceux-ci n'en contiennent plus quand la feuille a terminé sa croissance.

*Organes de reproduction.* — Dans la *corolle*, le *calice*, les *étamines*, l'alcaloïde se trouve dans l'épiderme et le liber des faisceaux ; dans le *carpelle*, il est uniquement autour des faisceaux.

Les *ovules* ne renferment que peu d'alcaloïde et la *graine* à maturité n'en contient pas.

3. — Alcaloïde du *Petunia violacea* Lindl.

Aucun alcaloïde n'a encore été retiré du *Petunia violacea* Lindl., mais l'existence d'un composé de cette nature a été mise en évidence par les recherches microchimiques de MOLLE<sup>(1)</sup>.

Les réactifs employés sont :

1° L'*iodure de potassium iodé* : précipité brun à reflet bleuâtre, disparaissant assez rapidement ;

2° L'*acide phosphomolybdique* : précipité jaune ;

3° L'*acide picrique* : précipité jaune ;

4° Le *chlorure d'or* : précipité jaune pâle, disparaissant rapidement.

**Répartition de l'alcaloïde dans le *Petunia violacea* Lindl.** — *Racine*.

— On peut le mettre en évidence dans le parenchyme cortical, le parenchyme libérien, les rayons médullaires.

1. PH. MOLLE : *Loc. cit.*, 51 (tiré à part). *Recueil Inst. bot. ERRERA, loc. cit.*, 329.

*Tige.* — Dans l'épiderme, l'endoderme, les « stéréides », le parenchyme libérien et le parenchyme médullaire avoisinant le liber interne.

*Feuille.* — Dans le pétiole, la répartition est la même que dans la tige.

Dans le limbe, l'alcaloïde existe, en quantité assez considérable, dans les épidermes et aussi, quoique très peu, dans les cellules en palissade. Les poils tecteurs donnent la réaction dans les cellules proches de l'épiderme. Les poils glanduleux n'en renferment pas.

*Organes de reproduction.* — Les pétales et les sépales présentent la même répartition que la feuille, avec moins d'intensité.

L'alcaloïde disparaît assez vite de la corolle. Les étamines en contiennent autour des faisceaux et dans l'assise nourricière du pollen; dans le style, il existe surtout autour des faisceaux. Le péricarpe le montre dans l'épiderme et dans la couche cellulaire qui tapisse la cavité ovarienne. Il y a beaucoup d'alcaloïde dans la région externe du tégument de l'ovule.

La graine n'a pas été étudiée.

#### 4. — Alcaloïde du *Salpiglossis sinuata* Ruiz et Pav.

Le *Salpiglossis sinuata* R. et P. renferme un alcaloïde qui n'a pas encore été isolé. Son existence est démontrée par les recherches microchimiques de MOLLE (1).

Les réactifs employés à cette recherche sont les suivants :

1° L'iodure de potassium iodé : précipité brun kermès ;

2° Le chlorure d'or : précipité jaunâtre.

3° L'iodure double de mercure et de potassium : précipité brun jaune.

Les résultats ont été contrôlés sur des coupes débarrassées de l'alcaloïde par immersion dans l'alcool tartrique d'ERRERA.

**Répartition de l'alcaloïde dans le *Salpiglossis sinuata* Ruiz et Pav.**

— *Racine.* — On le rencontre dans le parenchyme cortical et la partie externe des rayons médullaires.

*Tige.* — Il y a peu d'alcaloïde dans l'épiderme jeune. L'épiderme adulte et le tissu sous-jacent, dont les éléments rappellent les cellules en palissade, n'en renferment pas; par contre, il est très abondant « auprès des libers » (MOLLE).

*Feuille.* — Alcaloïde en petite quantité dans les épidermes, et autour des faisceaux. Les poils ne contiennent pas d'alcaloïde.

*Appareil de reproduction.* — Le péricarpe donne des réactions intenses. Les ovules renferment surtout l'alcaloïde dans la région externe du tégument. Dans la graine il n'y a pas d'alcaloïde.

1. PH. MOLLE. *Loc. cit.*, 51-52 (tiré à part). *Recueil Inst. bot. ERRERA, loc. cit.*, 329-330.

5. — Alcaloïde de *Brunfelsia americana* L.

Aucun alcaloïde n'a encore été extrait de ce végétal. Les recherches microchimiques de MOLLE (1) ne laissent aucun doute sur l'existence d'une base dans cette plante.

L'iodure de potassium iodé donne, dans certaines cellules, un précipité brun kermès ; l'acide phosphomolybdique, un précipité jaune ; le chlorure d'or, un précipité jaune pâle. Ces réactions ne s'obtiennent plus sur des coupes préalablement traitées par l'alcool tartrique.

**Répartition de l'alcaloïde dans le *Brunfelsia americana* L.** — *Tige.* — L'alcaloïde est abondant dans les cellules épidermiques, l'assise subéro-phellodermique ou les éléments non encore subérifiés qui en dérivent, de même que dans les éléments collenchymateux sous-épidermiques. Il est rare dans le parenchyme cortical, mais plus abondant dans l'endoderme, les éléments parenchymateux du péricycle, les « stéréides » et les rayons médullaires. La moelle est assez riche en alcaloïde.

*Feuille.* — Les réactions ne se produisent pas dans les épidermes, mais principalement au voisinage des faisceaux, surtout auprès du liber interne et dans les rayons médullaires.

Les organes de reproduction n'ont pas été étudiés.

6. — Alcaloïde du *Nicandra physaloides* Gaertn.

Aucun principe actif n'a été retiré du *Nicandra physaloides*. MOLLE, par des réactions microchimiques, a pu montrer l'existence d'un alcaloïde dans cette plante.

Il se sert pour cela de l'action de l'iodure de potassium iodé, qui donne un précipité brun noirâtre, du chlorure d'or, qui donne un précipité jaune pâle, et de l'acide picrique, qui donne un précipité jaune.

**Répartition de l'alcaloïde dans le *Nicandra physaloides* Gaertn.** — *Racine.* — On trouve l'alcaloïde dans les cellules de la coiffe et de l'assise pilifère. Dans la jeune racine, le parenchyme cortical est riche en alcaloïde. Dans la racine adulte, on n'en observe pas dans la couche subéreuse que la destruction de l'assise pilifère a mise à nu. Lorsque fonctionne l'assise subéro-phellodermique, on retrouve l'alcaloïde dans le phello-derme.

*Tige.* — Le point végétatif ne donne lieu à aucun précipité, mais, à peu de distance du sommet, les éléments non encore différenciés sont abondamment pourvus d'alcaloïde. A mesure que les tissus se différencient, l'alcaloïde se retire de l'anneau procambial pour se localiser dans la moelle

1. PH. MOLLE. *Loc. cit.*, 26 (tiré à part). *Recueil Inst. bot. ERRERA, loc. cit.*, 304.

et l'écorce, principalement au voisinage du liber. Enfin, d'après MOLLE, il abandonnerait à peu près complètement tous les autres tissus, pour se localiser exclusivement dans les « stéréides » externes et internes.

*Feuille.* — La jeune ébauche foliaire renferme très peu d'alcaloïde. A mesure qu'elle se développe, elle en accumule de plus en plus dans ses éléments non différenciés ; avec la différenciation des tissus coïncide l'émigration du principe actif vers les épidermes et les libers.

Lorsque la feuille est développée, la répartition est identique dans la pétiole à ce qu'elle était dans la tige. Dans le limbe, la réaction est surtout intense dans les épidermes et le liber des faisceaux. Les poils tecteurs encore jeunes donnent, dans le voisinage des parois, un précipité d'alcaloïde ; dans la suite, cette base en disparaît tout à fait.

*Fleurs.* — Dans le *calice* et la *corolle*, l'alcaloïde se comporte comme dans les feuilles, c'est-à-dire qu'après avoir rempli tous les tissus non différenciés, il émigre vers l'épiderme et le liber des faisceaux. Enfin, il disparaît presque complètement. Le même fait se produit chez les *étamines* où l'alcaloïde séjourne encore en dernier lieu autour du faisceau qui parcourt le filet et le connectif. Dans l'*ovaire*, la réaction se produit dans les épidermes des carpelles et autour des faisceaux libéro-ligneux.

L'assise externe de l'*ovule* en renferme au début une quantité assez notable, de même que les cellules les plus proches du sac embryonnaire. Mais l'alcaloïde diminue peu à peu, avec les modifications qui se produisent dans l'ovule ; la *graine* mûre n'en contiendrait plus.

Nous avons vérifié la présence d'alcaloïdes dans les tiges de *Nicandra physaloides* Gærtn., *Physalis Alkekengi* L., *Brunfelsia americana* L., *Petunia violacea* Lindl., *Salpiglossis sinuata* R. et P., et nos résultats concordent avec ceux de MOLLE ; nous faisons toutefois une restriction en ce qui concerne la présence d'alcaloïde dans les fibres péricycliques et médullaires.

#### 7. — Nicotine.

La *Nicotine* a été isolée à l'état impur des feuilles du *Nicotiana Tabacum* L., en 1809, par VAUQUELIN, puis, à l'état de pureté, en 1828, par POSSELT et REIMANN. Elle y existe sous forme de malate et de citrate, en quantité plus ou moins grande suivant les espèces. Sa formule, établie par MELSENS, est  $C^{10}H^{14}Az^2$ . C'est un liquide incolore, à odeur prononcée rappelant, de loin, celle du Tabac. Elle est très soluble dans l'eau, dans l'alcool, l'éther, les huiles grasses. Sa constitution est actuellement bien connue.

**Caractères microchimiques.** — Les réactions que l'on peut reproduire *in vitro* et susceptibles d'une application microchimique sont les suivantes :

1° L'*iodure de potassium iodé* donne un précipité brun kermès qui disparaît peu après ; la solution reste opalescente ;

2° L'*iodure double de mercure et de potassium* : précipité blanc jaunâtre ;

3° Le *chlorure de platine* : précipité blanc jaunâtre, soluble à chaud vers 70 degrés ;

4° Le *tanin* : précipité blanc jaunâtre, soluble dans l'acide chlorhydrique ;

5° L'*acide sulfurique* : coloration rose, passant au rose violet ;

6° L'*acide picrique* : précipité jaune, soluble dans un excès de réactif ;

7° L'*acide phosphomolybdique* : précipité abondant, jaune, puis vert jaunâtre ;

8° Le *bichlorure de mercure* : précipité blanc, abondant, soluble à chaud dans un excès de chlorure d'ammonium ;

9° L'*alloxane* : rien tout d'abord, puis, à température élevée, coloration rouge pourpre ;

10° Le *chlorure de cobalt* : précipité bleu, qui devient vert et qui est légèrement soluble dans un excès de nicotine.

**Méthodes de localisation.** — La localisation de cet alcaloïde a été faite par ERRERA, MAISTRIAU, CLAUTRIAU (1) dans le *Nicotiana macrophylla* Spreng, en se servant des réactions que donnent l'*acide phosphomolybdique*, le *bichlorure de mercure*, le *chlorure de platine*, l'*iodure double de mercure et de potassium* et surtout l'*iodure de potassium iodé*.

**Répartition de la Nicotine dans le *Nicotiana macrophylla* Spreng.** — *Racine.* — La nicotine existe dans les cellules périphériques et dans les quatre ou cinq assises les plus externes du parenchyme cortical.

*Tige.* — La réaction est surtout intense dans l'épiderme, les poils et les cellules situées à la base des poils. On la remarque également dans les cellules du parenchyme cortical et de la moelle au voisinage des faisceaux.

*Feuille.* — La nicotine est excessivement abondante au point végétatif, dans les jeunes parties de l'axe et dans les feuilles les plus jeunes.

*Pétiole.* — On trouve beaucoup d'alcaloïde dans l'épiderme, les poils, les cellules basilaires des poils ; dans l'écorce, il est surtout abondant dans les cellules parenchymateuses situées autour des nervures, principalement à la partie supérieure.

*Limbe.* — La répartition de la nicotine dans la nervure médiane est identique à celle du pétiole. Dans le limbe, l'alcaloïde est peu abondant dans les cellules épidermiques, sauf dans celles qui servent de support aux poils et dans les poils eux-mêmes. Aux nervures secondaires, l'alca-

1. ERRERA, MAISTRIAU, CLAUTRIAU. Premières recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes dans les plantes. *Bull. Soc. belge Microsc.*, 12, 1885-86. p.12-14 du tiré à part. *Recueil Inst. bot.* ERRERA, 2, 161-163, 1906.

loïde est surtout abondant dans les cellules immédiatement en contact avec la face supérieure des faisceaux. Dans le parenchyme assimilateur, l'observation est rendue très difficile par la présence de chlorophylle.

*Graine.* — La graine du *Nicotiana* est totalement dépourvue d'alcaloïde. C'est là un fait curieux qui contraste avec les résultats rencontrés chez les autres graines de la famille des Solanacées (*Atropa*, *Datura*, *Hyoscyamus*), qui renferment encore une forte proportion d'alcaloïdes.

La nicotine apparaît alors dès la germination de la graine.

**Répartition de la Nicotine dans le *Nicotiana Tabacum* L.** — La localisation de la nicotine dans le *Nicotiana Tabacum* L. a été établie par PH. MOLLE (1). L'alcaloïde se localise de la même façon que dans *N. macrophylla* Spreng.

En ce qui concerne la graine, l'auteur a remarqué que le tégument des ovules et le nucelle (2) sont assez riches en alcaloïde; mais peu à peu, ce dernier disparaît du nucelle et le tégument externe de la graine n'en contient que des quantités très faibles. Ce tégument est d'ailleurs en grande partie désorganisé et l'alcaloïde se trouve dans quelques débris provenant de cette couche adhérente à la graine.

## RUBIACÉES

### 1. — Alcaloïdes des *Cinchona*.

La localisation des alcaloïdes des Quinquinas devait naturellement attirer l'attention de tous ceux qu'intéresse la quinologie. Les travaux de WEDDELL, de KARSTEN, de SCHACHT et WIGGAND, de MULLER et FLUCKIGER, de CARLES en sont une preuve. Basés sur des expériences d'ordre exclusivement chimique, les résultats ne pouvaient pas atteindre l'exactitude que donne un examen microchimique et tout ce qu'on pouvait admettre, d'après les expériences de HOWARD et de CARLES, c'est que les alcaloïdes se trouvaient dans le parenchyme cortical, particulièrement dans les couches externes, là où les fibres libériennes sont en petit nombre.

La microchimie est venue dire le dernier mot et, dans ces dernières années, la quinologie s'est enrichie de travaux spéciaux qui ont complètement élucidé la question, ne laissant dans l'ombre que quelques points de détail.

Dans une série de recherches intéressantes faites au laboratoire de

1. PH. MOLLE. *Loc. cit.*, 49 (tiré à part). *Recueil Inst. bot.* ERRERA, *loc. cit.*, 327.

2. Nous ferons remarquer que le nucelle est réduit à son épiderme et disparaît avant la formation du sac embryonnaire.

Buitenzorg, LOTSY (1) nous a donné un aperçu sur le mode de formation des alcaloïdes, et l'un de ses derniers mémoires nous montre la localisation de ces principes dans tous les organes des *Cinchona*.

Dans une thèse de l'École de Pharmacie de Paris, CHARPENTIER (2) a étudié la localisation dans un certain nombre d'échantillons de *Cinchona* poussant dans les serres de l'École, entre autres : *C. cordifolia* Mut., *C. Calisaya* Wedd., *C. Josephiana* Wedd., *C. Schuchkrafii* Wedd., *C. officinalis* L., *C. succirubra* Pav., etc.

Il a étudié en outre tout particulièrement, sous le nom (impropre à notre avis) de *laticifères*, les organes appelés tour à tour : *lacunes*, *vaisseaux laticifères*, *Milchsaftzellen* (PHŒBUS), *Saftfasern* (SCHLEIDEN), *Saftrohren* (BERG et SCHMIDT), *canaux oléo-résineux* (TSCHIRCH), *éléments sécréteurs à contenu tannifère* (BRÆMER et SUIE).

Dans une analyse des travaux de LOTSY et CHARPENTIER, GORIS et REIMERS (3) ont montré que les recherches de ces deux auteurs concordent exactement en ce qui concerne la localisation des alcaloïdes, mais qu'il y avait une grosse divergence entre les deux auteurs au point de vue de la présence du tanin dans ces plantes.

CHARPENTIER prétend que le tanin est localisé exclusivement dans les cellules laticifères et, par conséquent, séparé de l'alcaloïde, d'où il conclut : « Comment expliquer cette opinion, généralement admise, que les alcaloïdes se trouvent dans les Quinquinas à l'état de quinaes et de quinoxannates ? Ou bien cette théorie est erronée, ou bien la formation de cette combinaison n'a lieu qu'après la mort de la plante, et par suite d'échanges osmotiques qui ne pourraient se produire pendant la vie. » LOTSY, beaucoup moins affirmatif dans ses conclusions au sujet du tanin, s'était borné à admettre l'existence du tanin dans les cellules à alcaloïdes, et dans tout son travail, à chaque ligne, nous retrouvons cette préoccupation qui le hante, puisque pour lui c'est le tanin qui empêche la netteté de ses réactions microchimiques. De même, au début de son travail, il donne une planche où sont étudiés les précipités d'un mélange de tanin et de quinine avec les différents réactifs qu'il emploie.

Dans leur travail, GORIS et REIMERS ont montré que, contrairement à l'opinion de CHARPENTIER, il existait dans les cellules à alcaloïdes un tanin particulier et que, si sa présence avait échappé à l'auteur, cela provenait de ce qu'il avait employé un mauvais réactif : le perchlo-

1. LOTSY : De localisatie van het alcaloïd in *Cinchona Calisaya Ledgeriana* en in *C. succirubra*. *Mededeelingen van d. Laboratoria der Gouvernment's kinaonderne-ning*, Batavia, 123 p., 36 fig. et 20 pl. col. 1898.

2. J.-B. CHARPENTIER : Etude anatomique et microchimique des Quinquinas de culture. 50 p. in-8°, *Thèse Doct. Un. Pharm.*, Paris, 1900.

3. A. GORIS et M.-N. REIMERS : Recherches microchimiques sur les Quinquinas. *Bull. Sc. Pharm.*, 3, 284-289, 1901.

rure de fer trop dilué, qui ne donne rien dans ces conditions; employé au 1/4 et contrôlé avec tous les autres réactifs des composés tanniques, il donne les réactions des tanins dans toutes les cellules à alcaloïdes. Bien plus, ils ont admis que le tanin contenu dans les cellules tannifères était probablement différent de celui des cellules alcaloïdiques, et que c'était le premier qui, en se résinifiant à l'air (ce qui justifie en partie l'appellation de TSHUCH de *canaux oléo-résineux*), communiquait leurs propriétés résineuses à certaines écorces de Quinquinas.

Nous passerons donc rapidement en revue les résultats signalés par LOTSY, confirmés par CHARPENTIER et par nous-même, sur les organes (tige, écorce, feuille, racines) que nous avons eus à notre disposition, et sur lesquels nous avons pu refaire et la localisation des alcaloïdes et celle des composés tanniques.

**Caractères microchimiques.** — Les alcaloïdes des Quinquinas sont nombreux; on en compte près de vingt, dont les plus importants sont: la *Quinine*, la *Cinchonine*, la *Quinidine*, la *Cinchonidine*.

Il est absolument inutile de donner toutes les réactions particulières à chacun de ces alcaloïdes. Dans la plante, tous ces produits basiques se trouvent très probablement dans les mêmes cellules et les réactions qui pourraient différencier des corps absolument purs, seraient inefficaces pour un tel mélange.

LOTSY a bien compris cet écueil, et il a demandé à VAN LEERSUM de lui préparer un *alcaloïde brut* sur lequel il a essayé les différents réactifs des alcaloïdes. Il a comparé l'action des réactifs sur l'alcaloïde brut préparé intentionnellement et sur les cellules des tissus alcaloïdiques des *Cinchona*.

Il a, de cette façon, étudié systématiquement les réactions produites avec l'*ammoniaque*, l'*acide chromique*, l'*iodure de potassium iodé*, le *chlorure d'or*, le *bichromate de potassium*, le *chromate de potassium*, le *ferricyanure de potassium*, la *potasse*, le *permanganate de potassium*, le *molybdate d'ammonium*, le *bicarbonate de sodium*. Il a consigné ces résultats dans les trois premières planches coloriées de son travail.

**Méthodes de localisation des alcaloïdes.** — Parmi les réactifs employés pour la localisation des alcaloïdes, l'*iodure de potassium iodé*, qui donne un précipité brun kermès soluble dans l'acide chlorhydrique, doit être préféré à tous les autres.

Les résultats sont contrôlés avec: l'*acide picrique*, le *chlorure de platine*, et tout particulièrement le *bicarbonate de soude*, qui montre bien que l'alcaloïde est dissous dans le suc cellulaire. Sous l'action de ce dernier réactif, la vacuole est irrégulièrement contractée et la précipitation a lieu à l'intérieur même de celle-ci.

L'*iodure de mercure et de potassium* a été employé par CHARPENTIER

pour les racines, dans lesquelles l'amidon masque la réaction de l'iodure de potassium iodé.

La préparation de la solution iodo-iodurée ne doit pas être quelconque; il faut, au contraire, y apporter beaucoup de soin. On dissout une assez grande quantité d'iodure de potassium dans l'eau, puis on ajoute de l'iode jusqu'à saturation; c'est là un point très important, car le précipité d'alcaloïde se redissout s'il y a un excès d'iodure de potassium. Au moment du besoin, le réactif est étendu pour l'amener à une couleur jaune faible (couleur vermouth). On peut, suivant les cas, y plonger directement les coupes, ou bien encore faire arriver le réactif sous la lamelle. Enfin, un troisième procédé consiste à faire absorber le réactif par la feuille elle-même, en plongeant une de ses extrémités dans le liquide, et en y pratiquant des coupes 20 à 24 heures après ce traitement (Lotsy).

Les autres réactifs ne peuvent servir que comme moyen de contrôle.

Par ces méthodes, on obtient une localisation en bloc des alcaloïdes; il n'est pas possible de les séparer les uns des autres.

Nous sommes également arrivé à reproduire une réaction comparable à celle de la thalléquinine, de la façon suivante: les coupes sont d'abord plongées dans de l'eau bromée; lorsqu'elles sont jaunes, on les passe rapidement dans l'ammoniaque diluée au 1/5 ou au 1/4; le tissu qui renferme l'alcaloïde se colore en rouge faible. Cette réaction est très délicate. Il est très difficile d'apprécier le temps de contact avec l'eau de brome et la concentration nécessaire de l'ammoniaque; aussi ne peut-on recommander ce procédé autrement que comme moyen de contrôle. De plus, nous ne pouvons affirmer que la réaction obtenue dans la cellule est bien due uniquement à la quinine.

Avec l'eau de chlore, la réaction est peut-être encore moins aisée; pour que la réaction de la thalléquinine se fasse bien, il faut un excès de chlore, et, si on laisse la coupe trop longtemps dans l'eau chlorée, le contenu des cellules est dissous. La proportion d'ammoniaque joue aussi un rôle dans la formation de ce composé coloré. Malgré tous nos efforts et nos soins, il nous a été impossible de déterminer exactement les conditions de réussite certaine de cette réaction. Après l'avoir obtenue deux ou trois fois durant le cours de nos recherches, nous avons dû abandonner l'espoir de réussir, et nous avons également adopté la solution iodo-iodurée.

HERDER a appliqué sa méthode de précipitation par l'iodure de cæsium et de mercure, avec caractérisation ultérieure du précipité au moyen de l'acide sulfurique et du bichromate de potassium. Les résultats sont d'ailleurs identiques à ceux de Lotsy.

**Répartition des alcaloïdes dans les *Cinchona*.** — *Racine*. Le point végétatif et la coiffe ne renferment pas d'alcaloïdes.

A la période primaire, la racine ne possède qu'une très faible quantité de principes actifs : l'assise pilifère n'en montre aucune trace, non plus que les tissus parenchymateux du cylindre central et du péricycle. Les cellules de l'assise subéreuse et quelques cellules du parenchyme cortical, surtout au voisinage de l'endoderme, fournissent un précipité important (Pl. XVI, 2, 5, 6).

Quand les formations secondaires se développent, l'alcaloïde apparaît dans le parenchyme libérien et dans le phelloderme issu de l'établissement d'un phellogène péricyclique. Les cellules subéreuses jeunes donnent aussi parfois un précipité.

Dans les écorces âgées, la localisation est sensiblement identique à celle que nous indiquerons pour les écorces de tige.

*Tige.* — Le point végétatif de la tige ne contient pas d'alcaloïde; mais aussitôt que le tissu commence à se différencier, il apparaît partout, sauf dans l'épiderme, les cellules oxalifères, les cellules tannifères, les fibres libériennes ou ligneuses, les tubes criblés et leurs cellules annexes, l'endoderme (Pl. XVI, 3).

Le cambium en voie de division ne contient ordinairement pas d'alcaloïdes; on en trouve cependant, dans certains cas, lorsqu'il est au repos.

Les régions les plus riches en principes actifs sont : le parenchyme cortical, le péricycle, puis les rayons médullaires et la moelle, et enfin les parenchymes libérien et ligneux. Le cambium, au fur et à mesure de son fonctionnement, donne naissance à des tubes criblés, des fibres libériennes et des éléments de parenchyme ligneux. Dans ces derniers seulement, nous trouvons de l'alcaloïde dont la proportion sera donc moins grande que dans le parenchyme cortical, où toutes les cellules donnent une réaction positive.

La microchimie confirme ainsi les analyses de Broughton et de Moens, qui montrent que les alcaloïdes se rencontrent en plus grande abondance dans les parties externes du parenchyme cortical.

*C. succirubra (Broughton).*

Partie libérienne . . . . .	5,95 p. 100
— corticale parenchymateuse . . . . .	7,98 p. 100

*C. Calisaya (Moens).*

Partie interne . . . . .	2,51 p. 100
— externe . . . . .	5,30 p. 100
— corticale parenchymateuse . . . . .	5,60 p. 100

La tige forme presque toujours du liège, et l'assise subérophellodermique prend naissance dans l'hypoderme (Pl. XVI, 1, 8).

Le phelloderme ainsi formé est riche en alcaloïde; les jeunes cellules du suber ayant encore leur noyau donnent très nettement la réaction.

Les cellules plus âgées ne renferment plus d'alcaloïde, à moins toutefois qu'il n'ait imprégné la membrane, ce que LORSY reconnaît ne pouvoir affirmer. L'assise génératrice ne renferme jamais de principes actifs; aussi, avant leur cloisonnement, les cellules sous-épidermiques perdent-elles rapidement tout l'alcaloïde qu'elles contenaient en si grande quantité.

*Feuille.* — L'épiderme de la feuille adulte, ou à peine développée, ne renferme jamais d'alcaloïde. Au-dessous de cette couche épidermique, on trouve, chez les *Cinchona*, un hypoderme, différencié de très bonne heure, et à peine distinct des cellules sous-jacentes chez les jeunes feuilles; il est, au contraire, très visible dans les feuilles adultes, grâce à l'absence de chlorophylle. L'alcaloïde se trouve en très grande quantité dans cette assise, et l'on peut facilement l'y caractériser sur une coupe tangentielle n'intéressant que les deux rangées de cellules. La coupe est tout à fait incolore et transparente; les cellules épidermiques, faciles à reconnaître par leurs parois ondulées, ne sont pas sensibles au réactif. Celles de l'hypoderme, au contraire, isodiamétriques, de dimensions assez grandes, à parois rectilignes, accusent une certaine quantité d'alcaloïde. En face des faisceaux, ces cellules sont allongées et semblent être encore plus riches en principes actifs. La face inférieure renferme moins d'alcaloïde que la face supérieure (Pl. XVI, 4, 7).

Dans la feuille jeune, le mésophylle, chez les *C. Ledgeriana* Moens et *C. succirubra* Pav., ne contient pas d'alcaloïde. Plus tard, lorsque les feuilles encore jaunâtres se séparent du bourgeon, il apparaît petit à petit et, finalement, toutes les cellules vertes se colorent franchement par l'action du réactif, surtout dans le voisinage des faisceaux. Cette particularité s'observe très facilement sur des coupes tangentielles, où l'on peut très bien voir les cellules les plus riches en alcaloïde suivre la direction des nervures. Le parenchyme palissadique renferme également de l'alcaloïde, le plus souvent accumulé contre la paroi supérieure, du côté de l'hypoderme. Les cellules parenchymateuses et le collenchyme, que l'on rencontre au-dessus de la nervure principale, renferment beaucoup d'alcaloïde. Les tubes criblés et leurs cellules annexes, le tissu ligneux des nervures, n'en contiennent pas; le parenchyme libérien, au contraire, semble riche en principe actif.

Dans les terminaisons vasculaires, les trachées, ainsi que les cellules transitoires et les cellules allongées qui les entourent, sont privées d'alcaloïde. Dans ces cellules, qui s'allongent ainsi dans la direction des faisceaux en formant une sorte de gaine, les grains de chlorophylle sont très peu nombreux, et toujours disposés contre la paroi la plus éloignée du faisceau.

*Pétiole.* — Cet organe offre la structure suivante : un épiderme présentant çà et là quelques poils, puis quatre ou cinq rangées de cellules

collenchymateuses, un parenchyme lacuneux et un cylindre central formé d'un cercle libéro-ligneux, à l'intérieur duquel se montrent quelques faisceaux médullaires. Il n'est pas rare non plus de trouver à la face supérieure du pétiole, dans le parenchyme, en dehors de l'anneau libéro-ligneux, un ou deux faisceaux isolés.

Si l'on plonge l'extrémité du pétiole dans la solution iodo-iodurée et que l'on pratique des coupes douze à dix-huit heures après cette opération, on peut constater que la réaction est nulle dans les cellules épidermiques, les poils, l'endoderme, les tubes criblés et leurs cellules annexes, le tissu ligneux. Au contraire, on obtient une précipitation très nette dans les cellules du parenchyme cortical, dans celles du péricycle, du parenchyme libérien et de la moelle. La partie la plus riche en alcaloïde est la région collenchymateuse sous-épidermique. La zone cambiale en est dépourvue. Les cellules à oxalate de calcium et les cellules tannifères (laticifères) ne donnent aucune réaction.

La lumière ne semble pas influencer sur la formation des alcaloïdes. Un plant de *C. succirubra* Pav., mis à l'obscurité sous une caisse en zinc, donne de jeunes pousses privées de chlorophylle. Ces feuilles renferment de l'alcaloïde, mais LORSY fait, avec juste raison, remarquer qu'il ne peut affirmer si l'alcaloïde s'est formé à l'obscurité, ou s'il provient des réserves de la souche.

**Organes de reproduction.** — Très jeune, la fleur ne renferme pas d'alcaloïde; plus tard, dans le *calice* et la *corolle*, il est localisé dans le mésophylle, et surtout dans la couche sous-épidermique.

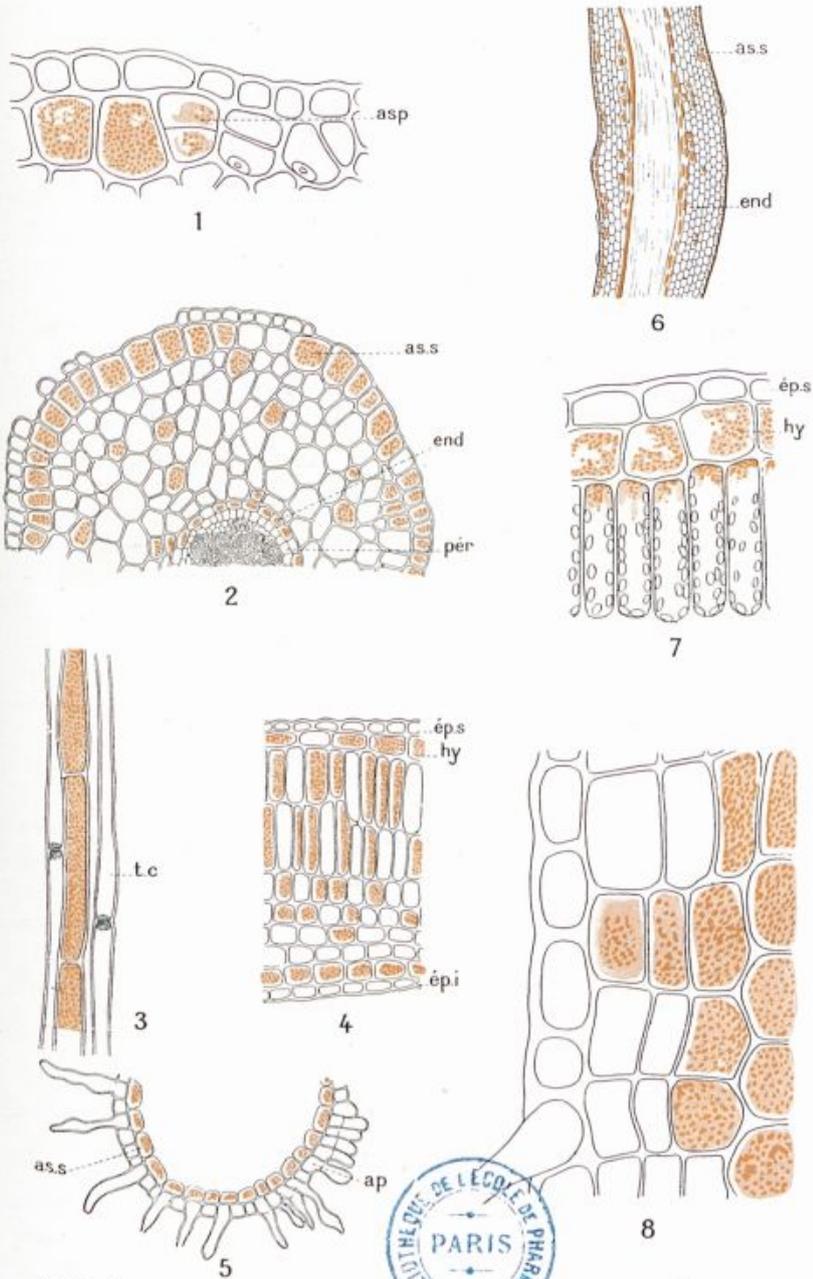
Dans les *étamines*, on le rencontre tout d'abord dans le connectif, puis, plus tard, dans les trois assises qui forment les parois des jeunes anthères. Dans les anthères adultes, il n'y en a plus que dans l'épiderme, les deux assises plus internes ayant disparu. C'est la seule partie de la plante où l'on puisse signaler la présence d'alcaloïde dans l'épiderme.

Les cellules mères du grain de pollen et le grain de pollen lui-même ne renferment pas de principes actifs.

La paroi de l'*ovaire* très jeune est d'abord très parenchymateuse et accuse la présence d'alcaloïde dans beaucoup de cellules, mais, peu à peu, elle devient cornée, se dessèche et, à la maturité, il n'en reste plus aucune trace.

Les *ovules* sont toujours exempts de principes actifs. Dans le placenta et le tégument des ovules, on peut cependant précipiter par le réactif iodo-ioduré une matière insoluble dans l'alcool chlorhydrique. La réaction de la xanthoprotéine montre que cette matière est très probablement de nature albuminoïde. Les parois du fruit renferment très peu d'alcaloïde.

L'embryon, traité par l'iode ioduré, prend une coloration brune, due aux albumines, comme le prouve la réaction de la xanthoprotéine. Mais



D'après LOTSY.

BONARD, SC.

*Cinchona succirubra* Ruiz et Pav. : 1, formation du phellogène ; 2, racine ; 3, tube criblé et cellule annexe ; 5, coupe transversale de l'extrémité de la racine ; 6, coupe longitudinale de la racine ; feuille montrant la localisation dans l'épiderme et l'hypoderme ; 8, phellogen. *C. Ledgeriana* Moens : 4, feuille.





il serait intéressant de contrôler, par une analyse directe, pour savoir s'il n'y a pas une très petite quantité d'alcaloïde.

Les *cotylédons*, par contre, en renferment une très grande quantité.

Tels sont les résultats des recherches de LOTSY, qui ont été faites sur différentes espèces de *Cinchona*: *C. javanica* (?), *C. pitayensis* Wedd., *C. lancifolia* Mut., *C. Calisaya* Wedd., *C. Hasskarliana* Miq., *C. Josephiana* Wedd., *C. Ledgeriana* Moens, *C. caloptera* Miq., *C. cordifolia* Mut., *C. officinalis* L.

Nous avons indiqué précédemment les espèces qui avaient servi à CHARPENTIER pour ses travaux. Ses résultats concordent presque en tous points avec ceux de LOTSY. Ils n'en diffèrent essentiellement que sur la présence ou l'absence de tanin dans les cellules à alcaloïdes.

**Relations entre les alcaloïdes et les composés tanniques.** — En ce qui concerne l'absence du tanin dans les cellules à alcaloïde, l'opinion de CHARPENTIER est absolument erronée : les résultats consignés dans le tableau du travail de REIMERS et GORIS ne laissent aucun doute à ce sujet.

On peut voir que, contrairement à ce que dit CHARPENTIER, le perchlorure de fer nous a donné un précipité dans les cellules autres que les cellules tannifères, résultat d'ailleurs confirmé par l'emploi des autres réactifs. Le suc qui s'écoule de ces éléments particuliers est incolore; il ne tarde pas à se colorer et à se *résinifier*, mais ce suc est exclusivement tannifère.

L'alcaloïde et le tanin existent bien dans les mêmes cellules, ainsi que l'avait si judicieusement fait remarquer LOTSY.

En résumé, d'après LOTSY et CHARPENTIER, et d'après nos recherches personnelles, l'alcaloïde existe dans toutes les cellules parenchymateuses : à l'état dissous dans la jeune feuille, à l'état amorphe dans les cellules de l'écorce secondaire. Il avoisine les jeunes organes, sans toutefois se rencontrer dans les cellules en voie de division du point végétatif, dans les cellules du cambium ou de l'assise subéro-phellodermique.

Il s'y trouve comme contenu des cellules vivantes; quelquefois cependant, on en trouve peut-être dans les parois des cellules mortes. Il est très difficile de se prononcer, car les réactions sur la membrane sont très délicates; en tous cas, il ne s'y trouve que secondairement, car il existait auparavant à l'état de dissolution dans les cellules.

Il n'y a pas d'alcaloïdes dans les tubes criblés ni dans leurs cellules annexes; par conséquent, il ne se trouve pas sur le lieu de transport des albuminoïdes, mais sur celui des hydrates de carbone.

L'alcaloïde se forme dans la feuille; il est ensuite transporté vers la racine et la tige, où il se dépose à l'état amorphe. Ainsi s'explique le fait, connu depuis longtemps d'ailleurs, que l'écorce des Quinquinas

RÉACTIF	ACTION SUR LES CELLULES tannifères	ACTION SUR LES CELLULES à alcaloïdes	OBSERVATIONS
Bichromate de potasse : 1/25 . Réactif de BRÆMER (acéto-tungstate de soude) . . . . . Réactif de CARPENE (acétate de zinc ammoniacal) . . . . .	Précipité brunâtre. Précipité rosé. —	Précipité brun marron. Précipité peu net. Précipité rosé granuleux.	» » Les vapeurs d'ammoniaque agissant sur la coupe, colorent le liber en rose, avant même l'action du réactif.
Acétate d'urane (solution aqueuse saturée) . . . . . Réactif de GAUJER (solution aqueuse d'acétate de cuivre au 1/30) . . . . . Solution de perchlore de fer du commerce, très diluée . . . . . Solution de perchlore de fer du commerce diluée au 1/4 . . . . .	Précipité ocreux. Précipité vert noirâtre. Précipité noir. —	Précipité granuleux. Précipité vert noirâtre. Rien. Précipité très net dans les cellules à alcaloïdes. Rien.	» » » »
Molybdate d'ammonium 1/5 . . . . .	Coloration des parois en jaune.		Le tannin des cellules tannifères est soluble dans le molybdate d'ammoniaque. Excellent réactif pour cette recherche.
Arséniate de sodium 1/10 . . . . .	Le tannin se trouve rassemblé au milieu de la cellule, et précipite sous forme d'une petite masse rose rougeâtre. Précipité noir. Précipité marron.	Précipité rosé granuleux.	
Sulfate ferreux . . . . . Eau de baryte . . . . . Cyanure de potassium . . . . .	Rien (parois des cellules un peu colorées en jaune).	Rien. Précipité rosé granuleux. Rien.	» » Le tannin des cellules tannifères est soluble dans le cyanure de potassium.

(1) Les coupes sont laissées dans les réactifs pendant un temps variant de une demi-heure à 3 heures, suivant le réactif employé.

contient plus d'alcaloïdes dans le bas que dans le haut du tronc : les parties les plus hautes ne font que transmettre les alcaloïdes aux parties les plus basses, où ils s'accumulent.

Une très forte lumière semble avoir une mauvaise influence sur la formation de l'alcaloïde ; on trouve généralement moins de principes actifs dans les feuilles des branches qui ont été exposées à l'action directe et intense du soleil. Les arbres à feuilles d'un vert foncé et, par conséquent, saines, sont plus riches que ceux qui ont des feuilles jaunâtres.

On ne rencontre pas d'alcaloïde dans la graine à l'état de matière de réserve.

Le principe actif se trouve dans les cellules avec du tanin, très probablement à l'état de quinate et de quinotannate.

## 2. — Emétine et Céphæline.

L'*Ipéca* renferme trois alcaloïdes : l'*Emétine*, la *Céphæline* et la *Psychotrine*.

L'*Emétine* est une *Méthylcéphæline*. C'est une poudre blanche amorphe, se colorant rapidement en jaune. Elle est peu soluble à froid dans l'eau, l'éther et l'éther de pétrole. Ses meilleurs dissolvants sont : le chloroforme, la benzine, les alcools méthylique et éthylique. Elle n'est pas ou n'est que peu soluble dans la soude.

**Méthodes de localisation et Répartition des alcaloïdes dans l'*Ipéca* (*Cephaelis Ipecacuanha* A. Rich.).** — TSCHIRCH et CESTERLE (1) furent les premiers à tenter de localiser l'émétine. Ils employèrent l'*acide picrique* et le *bichromate de potasse* et admirent que les bases alcaloïdiques étaient surtout situées dans la partie la plus interne de l'écorce.

C. BÖLLING (2) reprit cette étude ; il utilisa plusieurs réactifs : l'*iodure de potassium iodé*, le *chlorure de zinc iodé*, les *vapeurs d'iode*, le *bichromate de potasse*, l'*iodure double de mercure et de potassium*. Il obtint avec ceux-ci des colorations brun jaunâtre dans le parenchyme cortical, le cambium et le tissu criblé ; avec l'*acide picrique*, le *chlorure de platine*, des précipités jaune foncé ; avec l'*acide phosphomolybdique*, l'*acide phosphotungstique*, il obtint des précipités blanchâtres. L'*iodure de mercure et de potassium*, le *chlorure d'or* donnent des précipités qui ne sont visibles qu'après action de l'hydrogène sulfuré.

Le bichromate de potasse, employé par Tschirchne, lui a donné aucun résultat, et il incrimine la faible teneur en alcaloïde de son échantillon,

1. TSCHIRCH et CESTERLE : *Anatom. Atlas*, 38.

2. G. BÖLLING : *Beiträge zur Kenntnis einiger alkaloidhaltiger Pflanzen mit Berücksichtigung ihrer Anatomie und des mikrochemischen Nachweises ihrer Alkaloide. Dissert.* Erlangen, 21, 1900.

bien que le bichromate de potassium réagisse encore dans les solutions d'émétine ou de céphaline au 1/10.000. Le chlorure d'or ne lui donne pas de meilleurs résultats. Il préfère employer : soit l'iodure de baryum et de mercure, soit l'iodure de cæsium et de mercure en solution dans l'hydrate de chloral. Le premier de ces réactifs donne de bons résultats, surtout si l'on prend soin, après son action, de laver les coupes et de les traiter par une solution de bichromate de potasse à 1 p. 100. Le précipité de chromate de baryum s'éclaircit très rapidement dans l'hydrate de chloral. Ce réactif donne la répartition de l'émétine et de la céphaline.

O. TUNMANN (1) étudie l'action des divers réactifs des alcaloïdes sur la racine d'Ipéca. Parmi les réactions colorées qu'il indique, nous ne citons que la suivante. On mélange sur une lame de verre portant la préparation quatre gouttes d'acide sulfomolybdique et une goutte d'acide chlorhydrique bouillant. Lorsque l'action est terminée, on examine la préparation. Le bois est presque vert noirâtre, mais le phellogène et le phelloderme prennent une coloration bleue intense après un quart d'heure de contact, tandis que, dans le parenchyme cortical interne, le liber et le cambium, on trouve des gouttelettes jaunâtres. La coloration bleue serait due à la céphaline.

Le réactif de FRÖNDE donne, au contraire, une coloration violet rouge dans le parenchyme cortical, le liber et le cambium.

TUNMANN prétend que la céphaline est surtout localisée dans le phellogène et le phelloderme, tandis que l'émétine serait surtout située dans la partie interne de l'écorce et le liber. Pour déterminer le lieu d'élection de l'émétine seule, et connaître par suite celui de la céphaline, il faut traiter les coupes par la solution de soude à 30 p. 100, qui dissout la céphaline, avant de faire agir l'iodure de baryum et de mercure. On peut aussi avoir recours aux acides picrique ou picrolonique, qui précipitent *in vitro* les deux alcaloïdes; mais, dans certaines parties de la coupe, la céphaline étant en trop petite quantité, la précipitation n'a pas lieu, et l'on voit alors le phellogène et les couches extérieures du parenchyme cortical qui sont privés de précipité, alors que la partie interne de l'écorce et du liber renferme un précipité amorphe granuleux. L'examen de ces précipités, après un traitement rapide avec l'acide nitrique à 2 p. 100, devient très facile.

Il paraît évident que les alcaloïdes de l'Ipéca sont surtout situés dans l'écorce, et cela justifie, jusqu'à un certain point, le rejet de la partie ligneuse dans la préparation de la poudre d'ipéca. Toutefois, les auteurs précédents n'ont signalé aucune trace de principes alcaloïdiques dans

1. O. TUNMANN : Beiträge zur Mikrochemie einiger Wurzelrogen. *Handelsbericht Gehe u. Co*, 1912.

le bois, qui cependant en renferme. L'analyse chimique ne laisse aucun doute à cet égard, et des extraits préparés uniquement avec ce bois renferment encore jusqu'à 4,50 p. 100 d'alkaloïdes totaux, alors que l'extrait préparé avec la poudre privée du ligneux donne un extrait titrant de 12 à 15 p. 100, suivant les échantillons (A. GORIS).

### CAPRIFOLIACÉES

#### Alcaloïdes du *Sambucus Ebulus* L.

A. BLANC, au moyen de la méthode d'ERRERA, parvint à démontrer la présence d'alkaloïde dans les organes du *Sambucus Ebulus* L. Il n'a pu isoler ce principe actif, de sorte que l'on ne sait si l'on a affaire à un seul alkaloïde ou à un mélange. Nous ne connaissons pas davantage leurs caractères microchimiques.

**Méthodes de localisation.** — L'auteur a employé le réactif de BOUCHARDAT, et a contrôlé les résultats au moyen des réactifs de DRAGENDORFF et de VALSER. La comparaison sur des coupes débarrassées de l'alkaloïde par immersion dans l'alcool tartrique lui donnait la répartition de l'alkaloïde.

**Répartition de l'alkaloïde.** — *Racine.* — Dans la racine jeune (structure primaire), on le trouve dans les cellules du parenchyme cortical, du côté de l'endoderme; sa présence s'étend nettement jusqu'à l'assise pilifère, mais donne lieu à des réactions moins nettes que chez la jeune tige. Dans la racine plus âgée, l'alkaloïde se trouve exclusivement dans le liber. Il n'y en a pas dans le bois et les rayons médullaires.

*Tige.* — La jeune pousse est la partie de la plante qui renferme le plus d'alkaloïde : on le trouve dans tout le parenchyme cortical, surtout dans les cellules qui avoisinent l'endoderme et le péricycle. Il diminue progressivement jusqu'à la périphérie en donnant toutefois une réaction très nette jusqu'à l'épiderme. Il est rare dans le liber. Dans la moelle, il est très abondant au voisinage du bois et diminue à mesure que l'on s'approche du centre.

Dans une tige plus âgée, l'alkaloïde est toujours abondant dans le parenchyme cortical, du côté des amas scléreux péricycliques, mais devient rare dans la partie externe. Le réactif de BOUCHARDAT donne un précipité dans quelques cellules du liber. Dans la moelle, les cellules à alkaloïde forment un cercle continu bordant l'anneau ligneux. Le centre de la moelle est presque dépourvu d'alkaloïde.

L'alkaloïde diminue quand augmente l'âge de la tige, car, dans un organe très âgé, on n'en rencontre plus guère dans le parenchyme cortical, sauf au niveau des amas scléreux péricycliques.

Le liber est la région la plus riche. La moelle en est presque dépourvue.

*Rhizome.* — Dans le rhizome, la répartition est la même que dans la tige.

*Feuille.* — L'alcaloïde est surtout abondant dans la partie du parenchyme qui avoisine les faisceaux libéro-ligneux et dans quelques cellules du collenchyme situé aux faces supérieure et inférieure.

Dans le limbe, on le trouve dans les cellules de l'épiderme et du tissu palissadique. Il est très difficile de l'observer dans le parenchyme lacuneux.

*Organes de reproduction.* — Dans le *calice*, le réactif de BOUCHARDAT donne un précipité dans l'épiderme et dans le tissu parenchymateux, tant à la périphérie que dans la partie formant la ligne de séparation des carpelles.

Dans l'*ovule*, les réactions sont rendues difficiles à cause de la grande quantité de matière de réserve qu'il contient.

Dans le *fruit* jeune, on trouve de l'alcaloïde dans toute l'étendue du parenchyme, et aussi dans les assises épidermiques et le tissu palissadique. Dans le fruit plus âgé, les réactions sont moins nettes, mais, dans le fruit mûr, on ne retrouve plus trace d'alcaloïde.

Le *tégument de la graine* ne fournit aucune réaction avec le réactif de BOUCHARDAT. L'alcaloïde existe dans tout l'albumen, et particulièrement dans la partie externe. L'embryon, surtout, est très riche en alcaloïde.

La présence de substances alcaloïdiques dans le *S. Ebulus* L. n'est pas douteuse. Nous avons obtenu, dans les organes végétatifs et dans les régions indiquées par BLANC, une réaction par l'*iodure de potassium iodé*. Cette réaction est faible et, dans la radicule, nous n'avons pu obtenir une réaction positive. BLANC a d'ailleurs fait remarquer que les échantillons récoltés en montagne, dans des terrains secs et calcaires, étaient beaucoup plus riches en principes actifs que ceux récoltés dans les endroits humides des plaines. Notre échantillon, provenant du Jardin de l'Ecole de Pharmacie, n'était pas très riche.

Nous avons toutefois obtenu une localisation très nette dans les cellules épidermiques et les poils des feuilles. En abandonnant ces dernières, pendant deux ou trois heures, au laboratoire, elles perdent une partie de leur eau de végétation et, en y pratiquant des coupes assez épaisses, on obtient des résultats satisfaisants.

Il ne faut pas avoir recours aux réactifs à base d'acide sulfurique (*acides sulfocérique, sulfovanadique*), parce que dans certaines cellules épidermiques existe une matière colorante rouge qui, par les acides, même organiques, se dissout en donnant une coloration rouge intense, qui masque les réactions obtenues avec les réactifs sulfuriques.

## COMPOSÉES

Alcaloïdes des *Senecio*.

GRANDVAL et LAJOUX découvrirent, en 1895, deux alcaloïdes, la *Sénécionine* et la *Sénéicine* dans le *Senecio vulgaris* L.

**Méthodes de localisation.** — La localisation de ces composés a été faite par LUTZ<sup>(1)</sup>, qui s'est servi de la méthode d'ERRERA. Il emploie la précipitation au moyen de l'*iodure de potassium iodé* et de l'*iodure double de bismuth et de potassium*, et contrôle les résultats obtenus sur des coupes préalablement traitées par l'alcool tartrique. Il s'est également servi du *bi-iodure de mercure*, du *bichlorure de mercure* et de l'*acide picrique*.

**Répartition des alcaloïdes dans les Sénéçons.** — Dans les Sénéçons, les principes actifs sont localisés exclusivement dans les parties souterraines de la plante : souche et racine, au détriment des parties aériennes.

Dans les racines et les rhizomes, les alcaloïdes se trouvent dans le parenchyme cortical, la moelle et le liber. En arrivant à l'axe hypocotylé, on voit la quantité d'alcaloïde diminuer très rapidement pour devenir nulle au point où commence la tige proprement dite. Les *feuilles*, *fleurs* et *graines* ne renferment pas la moindre trace d'alcaloïde.

LUTZ a étudié la répartition de l'alcaloïde dans plusieurs espèces de *Senecio*.

Le *Senecio vulgaris* L. renferme très peu d'alcaloïdes, qui sont localisés uniquement dans la partie la plus externe de l'écorce.

Les *Senecio Jacobæa* L., *S. erucæfolius* L. et surtout *S. paludosus* L. sont beaucoup plus riches en alcaloïdes, qui sont situés dans l'écorce, le liber et la moelle.

Dans le *Senecio Cineraria* DC., la moelle se résorbant de bonne heure, les alcaloïdes se localisent dans le parenchyme cortical et le liber seulement.

Les *S. viscosus* L. et *S. sylvaticus* L. sont également peu riches en bases alcaloïdiques. La moelle de leurs parties souterraines, très peu développée, est sclérifiée et ne renferme pas de sénécine ni de sénécionine. Ces substances existent surtout dans le liber et le parenchyme cortical, mais plus particulièrement dans les cellules les plus externes de ce parenchyme cortical.

Le *S. adonidifolius* Loisel ne donne pas de réaction caractéristique des alcaloïdes.

1. LUTZ : Localisation des principes actifs dans les Sénéçons. *Bull. Soc. Bot.*, 42, 486-488, 618-619; 1895.

Les alcaloïdes manquent dans la graine et n'apparaissent que très tardivement dans la plante, car des jeunes plantes de *S. sylvaticus*, provenant de graines semées par LUTZ, ne renfermaient pas encore de sénécinine et de sénécionine au bout de trois mois.

Par une analyse chimique assez rudimentaire, mais qui cependant paraît suffisante en ce cas, l'auteur a pu vérifier les résultats que lui donnait l'examen microchimique. Les liqueurs obtenues en traitant les parties aériennes et les parties souterraines séparément par le procédé de GRANDVAL et LAJOUX, donnent, avec l'iodure de mercure et de potassium, un abondant précipité dans le cas des parties souterraines, et à peine un léger louche avec le liquide provenant des parties aériennes.

## B. — Gluco-alcaloïdes.

### SOLANACÉES

#### Solanine.

La *Solanine* est un glucoside alcaloïdique trouvé par DESPOSSE dans les baies de Morelle (*Solanum nigrum* L.). Elle existe dans les graines de la majeure partie des Solanées, dans le *Solanum Dulcamara* L., dans les jeunes pousses de Pomme de terre. Sous l'action des acides, elle se dédouble en *Solanidine* et *Solanose*.

La *Solanine* est insoluble dans l'eau, peu soluble dans l'éther et l'alcool froid. Elle cristallise en aiguilles soyeuses, fusibles à 235°.

La *Solanéine* est un glucoside amorphe qui accompagne souvent la solanine. Elle se dédouble également en *Solanidine* et en une matière sucrée peu étudiée.

**Caractères microchimiques.** — Les réactifs à employer pour la localisation de cette substance sont les suivants :

1° Le réactif de MANDELIN, nouvellement préparé avec de l'acide sulfurique trihydraté,  $\text{SO}^4\text{H}^2 + 2\text{H}^2\text{O}$ , donne une réaction très sensible. La solanine jaunit d'abord, devient rouge pourpre, rouge brunâtre, puis rouge framboise, violet, violet bleu, bleu verdâtre et finalement la coloration disparaît (WOOTZCAAL).

2° Le réactif de BRANDT. On chauffe légèrement les coupes avec le réactif, jusqu'à apparition d'une légère teinte; on cesse alors de chauffer: la coloration, d'abord rouge pourpre, devient rouge framboise, rouge orangé, jaune brun et enfin disparaît.

3° Le réactif de BAUER (acide tellurique dissous dans l'acide sulfurique

dilué) donne, en chauffant légèrement, une coloration rouge framboise persistant pendant deux ou trois heures. Cette réaction, très sensible, ne se produit pas avec l'atropine.

4° Le réactif de BACH (mélange à parties égales d'acide sulfurique concentré et d'alcool) donne à chaud une coloration rouge, puis rose et même rouge cerise si la proportion de solanine est assez forte.

5° Le réactif de FRÖHDE donne une coloration rouge cerise qui passe au brun rougeâtre et enfin au jaune.

6° L'acide sulfurique additionné d'acide nitrique. — L'acide sulfurique concentré produit une coloration jaune clair qui passe au rouge, puis au violet, pâlit, et finalement devient verte avant de disparaître.

A ces réactions colorées, il convient d'ajouter les réactions de précipitation avec les réactifs des alcaloïdes.

7° L'acide phosphomolybdique donne un précipité jaune pâle.

8° L'iodure de potassium iodé donne, avec la solanine, un précipité rouge brun ou jaune rougeâtre.

9° Le chlorure d'or, l'acide picrique, l'iodure de mercure et de potassium donnent également des précipités.

MOLLE, qui le dernier a étudié la question, a montré que ces dernières réactions étaient surtout dues à la solanidine.

**Méthodes de localisation.** — La localisation de la solanine a été étudiée par SCHAARSCHMIDT (1), WOOTCZAAL (2), THEORIN (3), puis par ALBO (4) et MOLLE (5).

SCHAARSCHMIDT et WOOTCZAAL ont eu recours aux réactions colorées.

Le premier de ces auteurs emploie l'acide sulfurique ou l'acide azotique concentré qui colore en rouge la solanine.

WOOTCZAAL emploie les réactifs de MANDELIN et de BRANDT. Les coupes, montées dans le réactif de MANDELIN et examinées sous le microscope, montrent une coloration verte dans les cellules à solanine; cette coloration persiste une minute, puis finalement devient rose. Nous préférons opérer un peu différemment: on dépose les coupes sur la lame avec une goutte d'eau et de glycérine; on recouvre d'une lamelle

1. SCHAARSCHMIDT: Ueber d. mikrochem. Reaction. des Solanins. *Zeitschr. f. wiss. Mikrosk.*, **1**, 61-62; 1884.

2. E. WOOTCZAAL. Über die mikrochemischen Reaktionen des Solanins. *Zeitschr. f. wiss. Mikrosk.* **5**, 19-38, 182-195, 1888; Zur Frage über die Verbreitung und Vertheilung des Solanins in den Pflanzen. *Arbeiten d. Naturf. Ver. zu Kasan*, **18**, 103, 19, 74, analyse: *Bot. Centralbl.*, **44**, 100-103, 1890.

3. THEORIN: Några växtmikrokemiska antekningar. *Öfv. vet. Akad. Stockholm* **20**, 1885.

4. G. ALBO: Sulla funzione fisiologica della Solanina. *Contr. biol. végét.*, **2**, 193-209, 1899.

5. PH. MOLLE: Recherches de microchimie comparée sur la localisation des alcaloïdes dans les Solanacées. *Mémoires couronnés et autres Mémoires publiés par l'Ac. royale de Belgique*, **43**, 1895, p. 40-48 (tiré à part). *Recueil Inst. bot. ERRERA*, **2**, 318-325; 1906.

et l'on fait arriver latéralement le réactif sur l'un des côtés en absorbant l'eau glycinée de l'autre côté au moyen d'un papier buvard. Les cellules à solanine se colorent en rouge groseille, puis en rouge fuchsine. Il faut suivre la réaction sous le microscope, car la coloration diffuse rapidement dans toutes les cellules. Nous éviterons d'employer le réactif préparé depuis plus de vingt-quatre heures.

MOLLE montre que la solanidine existe dans le suc cellulaire à côté de la solanine. En laissant les coupes dans de l'éther ou du chloroforme, on enlève la solanidine et on laisse intacte la solanine. Après séjour dans ces liquides, l'action du réactif de MANDELIN est encore nette, bien qu'atténuée, mais la solution d'iodure de potassium iodé ne donne plus de précipité. Par contre, dans l'éther ou le chloroforme, on peut, comme l'a constaté JORISSEN, caractériser la solanidine.

En se basant sur cette remarque, MOLLE localise la solanine en même temps que la solanidine par précipitation au moyen de l'iodure de potassium iodé et de l'acide phosphomolybdique.

**Répartition de la Solanine dans le *Solanum tuberosum* L. — Racines.** — Étudions les racines qui sont fournies en abondance par les tiges étiolées. Les cellules péricycliques qui sont en voie de division pour donner naissance à la racine, ainsi que les cellules du parenchyme cortical avoisinant, renferment de la solanine en abondance. A un stade plus avancé, lorsque la racine est formée, le glucoside se localise exclusivement dans la coiffe et les cellules sous-épidermiques. Ces cellules renferment, en outre, une grande quantité de tanin (MOLLE).

La racine adulte ne donne pas la réaction de la solanine.

**Tiges aériennes.** — A l'époque de la germination du tubercule, les pousses étiolées sont riches en glucoside, tant qu'elles ne dépassent pas deux ou trois centimètres de longueur. Elles vont en s'appauvrissant à mesure qu'elles s'allongent et restent à l'obscurité. Si, au contraire, elles végètent à la lumière, le glucoside se maintient en quantité notable au point végétatif. A quelques centimètres du sommet, il se retire vers l'épiderme et les libers. Les parties âgées de la tige ne contiennent de la solanine que dans les ébauches des organes en formation.

**Feuille.** — Très jeune, la feuille renferme de la solanine dans tous ses éléments parenchymateux, dans les cellules stomatiques et les cellules annexes. A mesure que la feuille se développe, sa teneur en solanine diminue, et quand elle a terminé sa croissance, ni l'épiderme, ni le mésophylle n'en contiennent plus. Mais on l'y observe toujours dans les « stéréides » et quelques éléments allongés situés des deux côtés des faisceaux (MOLLE).

En général, les poils ne renferment pas de solanine. Quelques-uns, très rares d'ailleurs, donnent un précipité avec l'iodure de potassium iodé. Cette opinion est également partagée par WOJCZAAL.

*Tiges souterraines.* — Même répartition que dans les tiges aériennes.

*Tubercules.* — Très jeunes, les tubercules renferment de la solanine dans l'épiderme, les cellules de la moelle et de l'écorce. Mais, dans la suite, elle se localise dans l'épiderme ou les cellules les plus internes du liège, tant que ces dernières ne sont pas subérisées.

Au voisinage des *yeux*, le glucoside se comporte comme au point végétatif et s'accumule dans le parenchyme médullaire situé sous les cellules méristématiques. Si l'on coupe un tubercule, les cellules qui se recloisonnent pour former le liège protecteur et les cellules sous-jacentes deviennent riches en solanine, sans que les éléments où l'on en avait constaté antérieurement paraissent en perdre.

En exposant des tubercules à la lumière, la proportion de solanine augmente lors du verdissement.

*Organes de reproduction.* — Dans le *fruit*, la solanine se localise dans les épidermes, le tégument externe de l'ovule, l'assise protéique de l'albumen. ALBO prétend au contraire que la solanine n'existe que dans les cotylédons.

Pendant la maturation, le glucoside diminue, mais on en retrouve encore des traces dans le tégument de la graine.

La solanine est toujours dissoute dans le suc de la vacuole, et les affirmations de THEORIN et WOOTCZAAL, qui prétendent qu'elle se trouve parfois dans les membranes, sont erronées et ne peuvent s'expliquer que par l'action trop énergique de leurs réactifs.

A part cette différence entre MOLLE et WOOTCZAAL, les répartitions de la solanine données par les différents auteurs sont concordantes.

**Répartition de la Solanine dans le *Solanum Dulcamara* L.** — La localisation de ce glucoside dans le *Solanum Dulcamara* L. a été réalisée par WOOTCZAAL. MOLLE, qui a repris cette étude, trouve que l'iodure de potassium iodé et l'acide picrique ne donnent pas de réactions rappelant celles de la solanine dans le *Solanum tuberosum* L., et croit pouvoir conclure que le corps qui donne des colorations avec les réactifs de WOOTCZAAL, est un glucoside découvert par WETTSTEIN : la *Dulcamarine*.

*Racine.* — Le glucoside se rencontre dans le liège et le parenchyme cortical.

*Tige.* — Dans le *Solanum Dulcamara* L., le glucoside se localise, d'après WOOTCZAAL, dans l'épiderme, les couches collenchymateuses sous-épidermiques de la tige et plus spécialement dans les cellules qui se trouvent sur la face supérieure de la tige.

MOLLE constate, d'autre part, une coloration dans le parenchyme cortical et le parenchyme médullaire entourant le liber interne.

*Feuille.* — Le glucoside se rencontre principalement dans les cellules épidermiques et surtout dans celles, plus allongées, qui recouvrent les

nervures. Le mésophylle en contient très peu. Les poils ne semblent pas donner de réaction.

*Pétiole.* — Même répartition avec prédominance des cellules à glucoside vers la face tournée à la lumière.

*Organes de reproduction.* — On rencontre le glucoside dans l'épiderme externe des *sépales* du *Solanum Dulcamara* L. Dans l'*androcée* et les *carpelles*, le glucoside est à l'état permanent, surtout dans les parties périphériques et autour des faisceaux du péricarpe et des placentas. Il en est de même dans le *fruit* non mûr, mais au fur et à mesure de la maturation, la teneur en glucoside diminue considérablement et il se localise exclusivement dans les couches périphériques, ainsi que dans la couche de tissus avoisinant les semences.

La *graine* est pauvre en principe glucosidique.

Il n'y a donc pas contradiction bien grande entre les recherches de WOOTCZAAL et celles de MOLLE, en ce qui concerne la répartition des glucosides ; mais l'un attribue les réactions colorées produites par le réactif de MANDELIN à la *Solanine* ; l'autre croit, au contraire, que ces réactions sont dues à la *Dulcamarine*, car les réactifs des alcaloïdes (solanine et solanidine) ne lui ont donné aucun résultat.

Nos observations personnelles nous ont montré ce qui suit : dans la coupe d'une tige de Douce-amère montée dans la glycérine pure, on trouve, dans la partie qui était exposée à la lumière, des *cellules sous-épidermiques* dans lesquelles on aperçoit, au milieu des grains de chlorophylle, une ou plusieurs vésicules colorées, soit en violet, soit en bleu. Ces vésicules existent aussi dans les première, deuxième et troisième assises des cellules collenchymateuses. A la base des poils, il existe souvent une cellule avec des vésicules analogues. Si l'on fait arriver le réactif de MANDELIN ou même de l'*acide sulfurique dilué*, ces vésicules se dissolvent en donnant une coloration rouge vif ou rose, et la couleur diffuse rapidement dans toute la coupe. La même réaction se produit autour des fibres pérycylques (stéréides de MOLLE), dans les amas libériens pérимédullaires auprès des vaisseaux du bois, et cependant on ne trouve pas de vésicules colorées dans ces régions (1).

Dans la feuille, on observe une réaction analogue à la face supérieure de la nervure médiane.

Si l'on met de semblables coupes dans le chloroforme, qui ne dissout ni la solanine, ni la dulcamarine, après cinq minutes de contact, on obtient encore une coloration aussi rose dans les cellules sous-épidermiques. Après dix minutes, la réaction est encore très nette, mais les vésicules semblent s'être dissoutes et tout le parenchyme cortical est coloré en rose. Après quinze minutes, la couleur rouge s'est fixée sur

1. ALBO avait déjà fait une semblable constatation.

les premières assises du bois et le réactif de MANDELIN n'agit plus sur les assises sous-épidermiques. La réaction colorée ne semblerait donc pas imputable à la dulcamarine, puisque cette dernière est insoluble dans le chloroforme.

Si l'on traite ces coupes par les réactifs des tanins (*bichromate de potasse, perchlorure de fer dilué, acétate d'urane, réactif de BRÆMER, réactif de CARPENE, molybdate d'ammoniaque*), on trouve un précipité dans les *cellules épidermiques*, mais rien dans les assises sous-épidermiques. Le molybdate d'ammoniaque est, à cet égard, le réactif qui permet le mieux l'examen microscopique, car les cellules à tanin de l'épiderme ont une belle teinte jaune, et les cellules sous-épidermiques gardent leur coloration verte due à la chlorophylle. Les vésicules de couleur violette ou bleue ont disparu; d'ailleurs, ces coupes, traitées par le réactif de MANDELIN, ne donnent plus de réaction. Si, par hasard, il reste une de ces vésicules, elle donne immédiatement la réaction caractéristique que nous avons indiquée. La coloration que l'on obtient avec les réactifs à base d'acide sulfurique ne peut donc être rapportée aux substances tanniques.

Ajoutons enfin que la solanine en solution acétique ne donne *in vitro* aucun précipité avec les réactifs des tanins.

Ces résultats sont bien déconcertants et jettent un doute sur les conclusions de WOOTZCAAL et de MOLLE. Nous regrettons de n'avoir pu poursuivre nos recherches. Il est certain qu'il faudra avoir recours à d'autres réactifs que les acides pour étudier la répartition de la solanine dans le *Solanum Dulcamara* L. La présence, dans les assises sous-épidermiques, d'une matière colorante qui se dissout dans les acides en se colorant en rouge, comme font les glucosides en présence des réactifs sulfuriques, peut amener de sérieuses confusions et conduire à de fausses interprétations. D'autre part, on ne peut nier que la coloration rouge s'obtienne dans des tissus d'où les vésicules colorées soient absentes (fibres péricycliques pérимédullaires). Dans ces conditions, nous croyons prudent d'accepter sous toutes réserves les résultats concernant la localisation de la solanine dans le *Solanum Dulcamara* L. et nous pensons que de nouvelles recherches sont indispensables.

#### IV

### RÉSULTATS GÉNÉRAUX FOURNIS PAR LA LOCALISATION DES ALCALOÏDES

Ayant exposé dans le chapitre précédent les travaux consacrés à la localisation des alcaloïdes et à leur répartition dans les végétaux, il convient d'en tirer, s'il est possible, quelques conclusions générales.

En premier lieu, nous constatons que la localisation des alcaloïdes peut se faire facilement au moyen des « réactifs généraux », parmi lesquels l'*iodure de potassium iodé* est, sans aucun doute, le réactif de choix. Il est avantageux, du reste, de contrôler les résultats obtenus à l'aide d'une réaction de coloration.

Connaissant un alcaloïde, il nous sera donc facile de déterminer sa répartition dans la plante; bien plus, cette méthode pourra s'appliquer avec succès à la recherche, dans des plantes nouvelles, d'alcaloïdes inconnus, sans qu'il soit nécessaire d'avoir recours à l'examen chimique; ici même, la recherche microchimique, rapide et sûre, précédera et guidera l'extraction, par les méthodes chimiques, de l'alcaloïde cherché.

Les alcaloïdes, généralement combinés à des acides ou à des tanins, existent à l'état dissous dans le suc cellulaire. On a pu les signaler dans la membrane (berbérine), mais cette localisation est rare, et toujours secondaire.

Dans les plantes, les alcaloïdes sont répartis suivant un mode très général. Ils se trouvent surtout dans les parties externes de la racine; dans l'épiderme, les poils tecteurs et les assises sous-épidermiques de la tige; dans l'endoderme de la tige et dans celui, généralement plus net, de la racine; à la périphérie de la moelle et du périodesme.

Enfin, on les rencontre en proportions moindres, et d'ailleurs variables, dans les divers parenchymes: corticaux, libériens, médullaires, et même dans les parenchymes ligneux non lignifiés.

Dans le liber, quelques auteurs seulement (ALBO, GUÉRIN) affirment la présence d'alcaloïde dans les tubes criblés; dans la grande majorité des cas, c'est dans les cellules annexes et les cellules du parenchyme que l'on obtient des réactions positives.

Dans la graine, tantôt on ne rencontre d'alcaloïde que dans les téguments; tantôt l'albumen, parfois l'embryon, en renferment aussi.

Lorsque les organes se développent, on peut trouver, ou non, de l'alcaloïde au point végétatif; mais quand il s'y trouve, il y est réparti un peu au hasard, de façon assez diffuse; ce n'est qu'à une certaine distance de ce point qu'on observe une localisation analogue à celle que présente l'organe adulte.

Enfin, on doit signaler particulièrement la présence d'alcaloïdes dans les laticifères (Papavéracées, Fumariacées), les cellules sécrétrices (*Conium*, etc.), les cellules à raphides (Amaryllidacées), éléments considérés comme organes de sécrétion. Les « réservoirs à alcaloïdes » que nous avons signalés chez les Légumineuses, en particulier chez *Erythrina Corallodendron* L., semblent être spécialisés en vue de la production d'alcaloïdes.

En utilisant les seules méthodes de localisation, peut-on demander autre chose que de nous fixer sur la répartition de l'alcaloïde dans les organes adultes ou aux divers moments de leur développement? Peut-on, en particulier, étudier par leur seul emploi les migrations des alcaloïdes?

Ce serait trop exiger. Une réaction de précipitation ou de coloration ne peut donner aucune indication quantitative sur le principe considéré. L'intensité du précipité ou de la coloration dépend de la concentration du suc cellulaire; elle peut être masquée, ou diminuée, par la présence d'autres substances, de nature très différente. On ne pourra donc affirmer, après précipitation ou coloration, que l'existence de l'alcaloïde dans des tissus plus ou moins étendus, dans des cellules plus ou moins nombreuses.

Pourtant, on a pu tirer quelques indications biologiques de la localisation des alcaloïdes, en ne retenant que les différences importantes d'intensité entre les réactions.

C'est ainsi que l'alcaloïde semble se former dans les feuilles. Cette formation ne paraît pas résulter de l'assimilation chlorophyllienne, puisqu'elle a lieu aussi dans la germination, à l'obscurité, de graines qui n'en renfermaient pas, sans aucun doute aux dépens des substances de réserve de l'albumen ou des cotylédons.

On peut encore conclure de ces recherches que les alcaloïdes tendent à se transporter vers les régions externes de la tige qui seront éliminées plus tard, entraînant avec elles l'alcaloïde qu'elles renferment (*Cinchona*)<sup>(1)</sup>. Il est facile, par cette méthode, de déterminer l'époque de l'apparition de ces principes dans la germination des graines dépourvues d'alcaloïdes ou de leur disparition sous l'influence de certaines conditions de végétation. Les remarques de CLAUTRIAU sur le *Papaver somniferum* L. sont très concluantes à ce sujet.

1. On a également émis l'hypothèse que les alcaloïdes émigraient vers les parties externes pour s'y oxyder plus facilement.

En un mot, les méthodes de localisation nous permettent de suivre, à « titre qualitatif », l'évolution de l'alcaloïde dans la plante.

En localisant les alcaloïdes, on remarque aussi, avec une netteté suffisante, qu'en général, ils se trouvent surtout dans les régions de grande activité cellulaire. C'est ainsi que GUÉRIN a pu constater le déplacement continu des alcaloïdes des appareils végétatifs vers les organes reproducteurs.

Quant à conclure d'après cela que les alcaloïdes sont utilisés pour la nutrition des organes en formation, ou qu'ils sont, au contraire, des substances de déchet, c'est une ambition prématurée. Il faudra, pour appuyer ces théories, d'autres considérations tirées de l'étude des migrations et des variations quantitatives des substances alcaloïdiques. Cela exigera le concours des méthodes chimiques de dosage et des recherches biologiques sur la nutrition des végétaux ; ce sont les expériences ainsi conduites, et leurs résultats, que nous étudierons dans les chapitres suivants. Après seulement, nous pourrons tenter de concevoir quel est le rôle des alcaloïdes.

Il semble donc bien que les études de localisation aient atteint actuellement un « point mort ». Elles peuvent donner des renseignements utiles au pharmacologiste sur la nature chimique des « principes actifs » supposés d'une drogue, — au chimiste, pour l'extraction de ces principes. Mais elles ne peuvent ajouter aux faits d'ordre biologique déjà connus, ni permettre de les interpréter. Peut-être, cependant, est-il permis d'attendre, de l'emploi de techniques microchimiques plus délicates, plus approfondies, de nouvelles acquisitions ; elles concerneraient, cette fois, le mécanisme de formation des alcaloïdes au sein même de la cellule. Ce sera l'œuvre de demain.

## DEUXIÈME PARTIE

### BIOLOGIE DES ALCALOÏDES PROPREMENT DITS

#### *Biologie des alcaloïdes*

Divers auteurs, à la suite d'expériences de localisation, ont cherché à définir le rôle biologique des alcaloïdes. Ainsi, ALBO, remarquant la disparition de l'alcaloïde du bulbe de Colchique quand se forme le second bulbe, suppose que la colchicine est un aliment utilisé dans cette formation. D'autre part, la répartition des alcaloïdes des *Cinchona* nous conduit plutôt à les considérer comme des substances de déchet. Toutes ces conclusions sont prématurées.

Comme nous l'avons fait remarquer dans le chapitre précédent, il faut, avant de conclure, d'autres résultats que ceux qu'on peut obtenir par la localisation des principes alcaloïdiques.

Les résultats obtenus dans l'étude de la formation des alcaloïdes, de leurs migrations, de leurs variations quantitatives, seront de précieux points d'appui pour les hypothèses possibles.

C'est l'étude de cette formation, de ces migrations et variations, que nous allons aborder maintenant; elle portera sur les phénomènes biochimiques naturels qui se manifestent au cours de végétations normales, comme sur les phénomènes provoqués par la modification des milieux expérimentaux, par les traumatismes, par la greffe. Tous ces phénomènes ne seront d'ailleurs pas exposés pour eux-mêmes; ils ne sont étudiés que par rapport aux conclusions qu'on en peut tirer concernant la signification biologique des alcaloïdes.

## MODE DE FORMATION DES ALCALOÏDES

Le mode de formation des alcaloïdes constitue l'un des points les plus énigmatiques de la phytochimie. D'où dérivent ces produits ? Quelle peut bien être leur utilité pour la plante ? Ces questions se sont posées de bonne heure et de nombreux auteurs ont cherché à les résoudre, plus par des hypothèses — il faut bien le reconnaître — que par des expériences et des faits précis. Nous n'aurons pas à enregistrer ici des recherches analogues à celles de TREUB sur le mode de formation des glucosides cyanhydriques. Les aperçus que nous possédons sur la genèse de ces composés sont donc tous du domaine de l'hypothèse. De l'examen des réactions de laboratoire on a conclu à la réalisation de réactions analogues dans la plante et cela n'a été possible que lorsque la constitution de quelques alcaloïdes a été bien connue.

Presque tous les alcaloïdes étant constitués par un noyau pyrrolique ou pyridique, ou renfermant un de ces noyaux dans leur molécule, on a voulu établir les relations de ces noyaux avec des molécules plus complexes dont ils font partie. De là est venue l'idée de rapprocher, à cause de leur constitution, la formation des alcaloïdes de celle des composés chlorophylliens ou des matières albuminoïdes.

Cette hypothèse une fois posée, une question se présente immédiatement à l'esprit : les alcaloïdes sont-ils une étape dans l'édification de la molécule albuminoïde et sont-ils les matériaux de cette construction ? ou bien, au contraire, les trouve-t-on parmi les produits de décomposition des matières protéiques ? Et, si cette dernière conception est vraie, ces produits de désagrégation sont-ils susceptibles d'être repris par la plante et de rentrer dans le cycle des réactions chimiques ?

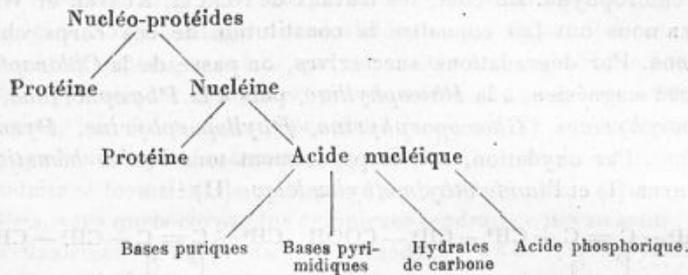
Nous allons exposer successivement les différentes théories proposées et les raisons qu'elles présentent pour leur justification.

La théorie la plus répandue est celle qui fait dériver les alcaloïdes des matières albuminoïdes. C'est une opinion très rationnelle en ce qui concerne les **alcaloïdes du groupe de la purine**.

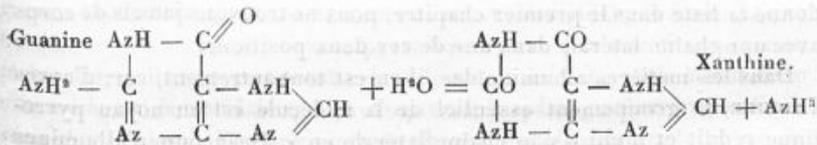
Ces substances existent également chez les animaux sous forme d'*Hypoxanthine* (*oxypurine*), de *Xanthine* (*dioxypurine*), d'*acide Urique*

(*trioxypurine*) et nous savons très bien que dans ce cas elles dérivent du dédoublement des *acides nucléiques* et des *nucléoprotéides*.

Leur mode de formation est représenté par le schéma suivant :

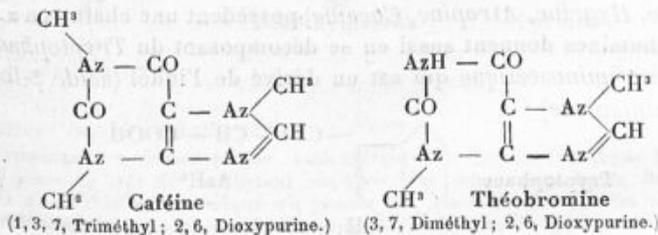


La *Guanine* et l'*Adénine* existent chez certains végétaux : on a trouvé la première de ces substances dans la Levure de bière, la seconde dans la feuille de Thé. Ces composés dérivent indubitablement des nucléoprotéines et les travaux de WALTER JONES et d'A. SCHITTENHELM ont montré que, sous l'influence de deux ferments, la *guanase* et l'*adénase*, ils peuvent se transformer en *Xanthine* et *Hypoxanthine* :



Dans d'autres plantes, nous retrouvons des corps possédant le même groupement atomique, mais, tandis que chez les animaux ces noyaux sont seulement oxydés, ils seront, de plus, méthylés dans le règne végétal.

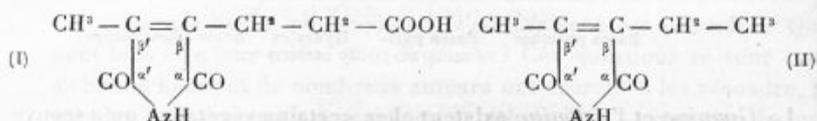
Nous devons donc, par analogie, leur attribuer une origine identique :



Un raisonnement analogue s'impose pour les alcaloïdes du groupe de la *choline* et de la *bétaïne*. Ces alcaloïdes existent aussi chez les

animaux, et nous savons qu'ils doivent leur formation à la décomposition des *lecithines* et des *lecithalbumines*.

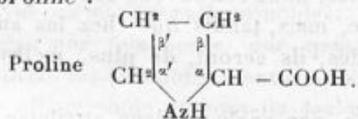
On avait tout d'abord pensé à faire dériver les **alcaloïdes pyrroliques** de la chlorophylle. En effet, les travaux de NENCKI, KUSTER et WILLS-TÄTTER nous ont fait connaître la constitution de ces corps chlorophylliens. Par dégradations successives, on passe de la *Chlorophylle*, composé magnésien, à la *Phœophylline*, puis à la *Phœophorbine*, puis aux *porphyrines* (*Glaucoporphyrine*, *Phylloporphyrine*, *Pyroporphyrine*). Par oxydation, ces corps donnent tous l'*acide hématinique* de KUSTER (I) et l'*imide éthylméthylmaléique* (II) :



qui sont des dérivés pyrroliques.

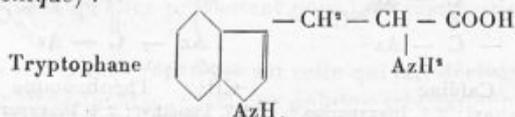
PICET (\*) ne croit pas que les alcaloïdes puissent dériver de la chlorophylle. Si on examine, en effet, les précédentes formules, on voit que les corps dérivant de la chlorophylle sont munis de deux chaînes latérales en  $\beta$  et  $\beta'$ ; or, chez les alcaloïdes à noyaux pyrroliques, dont nous avons donné la liste dans le premier chapitre, nous ne trouvons jamais de corps avec une chaîne latérale dans une de ces deux positions.

Dans les matières albuminoïdes, il en est tout autrement, car, d'après FISCHER, le groupement essentiel de la molécule est un noyau pyrrolique réduit et muni d'une chaîne latérale en  $\alpha$ . Beaucoup d'albumines donnent, en effet, par dédoublement, l'*acide  $\alpha$ -pyrrolidine carbonique* ou *proline* et l'*oxyproline* :



Or, tous les alcaloïdes pyrrolidiques dont la constitution est connue (*Nicotine*, *Hygrine*, *Atropine*, *Cocaine*) possèdent une chaîne en  $\alpha$ .

Les albumines donnent aussi en se décomposant du *Tryptophane* ou *acide scatolaminoacétique* qui est un dérivé de l'indol (*acide  $\beta$ -indol- $\alpha$ -aminopropionique*) :



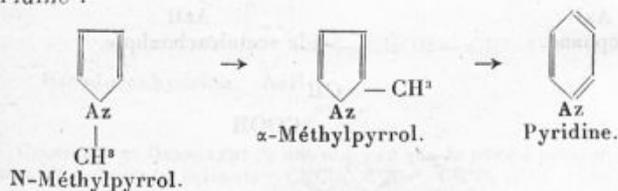
1. A. PICET : Quelques considérations sur la genèse des alcaloïdes dans la plante. *Arch. d. Sc. phys. et nat.*, Genève (4 s.), 19, 329-352, 1905; Ueber die Bildungsweise der Alkaloide in den Pflanzen. *Arch. der Pharm.*, 244, 389-396, 1906.

Le double noyau de l'indol et de l'isoindol, que l'on trouve dans certains alcaloïdes, tirerait donc également son origine de la décomposition des matières albuminoïdes. D'ailleurs, le *Scatol* a été trouvé dans la *Celtis reticulosa* Miq. et l'*Indoxyle* existe dans beaucoup de végétaux.

Si l'origine albuminoïdique des alcaloïdes ne paraît pas douteuse pour les bases à noyau purique et bêtaïque et paraît très vraisemblable pour les alcaloïdes pyrroliques, il n'en est pas de même des composés à noyaux pyridiques, car on ne connaît pas dans la plante de substances complexes ayant un noyau fondamental pyridique. On a voulu admettre que ces produits se formaient de toute pièce par synthèse; mais on s'explique mal, alors, vers quels corps plus complexes tendrait ce noyau azoté, pour aboutir finalement à un produit ne possédant plus ce noyau pyridique.

Pour PICTET<sup>1</sup>, l'albuminoïde serait dans tous les cas la substance génératrice des alcaloïdes, et il explique la genèse des composés pyridiques par l'hypothèse suivante qui paraît très séduisante à première vue. La décomposition des matières albuminoïdes donnerait naissance au noyau pyrrolique ou mieux pyrrolidique; par l'effet des réactions cellulaires de la plante, agent méthylant par excellence, le groupe CH<sup>3</sup> s'introduirait dans ce noyau pour transformer le noyau cyclique à cinq sommets en noyau pyridique à six sommets<sup>2</sup>. Pour cette transformation, le groupe méthylène, provenant, d'après PICTET, de l'aldéhyde formique, se fixerait tout d'abord sur l'azote pyrrolique, puis, par une transposition moléculaire, il entrerait ensuite dans le noyau lui-même. Ce serait donc une méthylation spéciale qui provoquerait le passage des corps d'une série dans l'autre. Par une réaction absolument semblable, le noyau de l'indol donnerait la quinoléine.

Ainsi donc le *N-méthylpyrrol* ou mieux l'*α-méthylpyrrol* (car le *N-méthylpyrrol* se transforme rapidement en *α-méthylpyrrol*) donnerait la *Pyridine* :



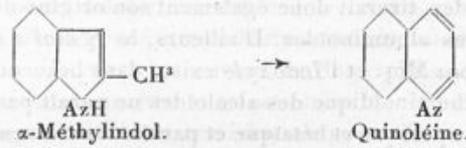
1. PICTET : *Loc. cit.*, 329-352, 1905.

2. ESCHWEILER<sup>1</sup> a démontré que, dans certaines conditions, l'aldéhyde formique pouvait jouer le rôle de méthylant vis-à-vis des bases organiques. Rappelons toutefois que l'aldéhyde formique n'a jamais pu être isolé des plantes vertes, et tout dernièrement encore NICLOUX<sup>2</sup> a confirmé ces recherches négatives. Par contre, on y trouve presque toujours l'alcool méthylique et un aldéhyde spécial : l'aldéhyde foliaire.

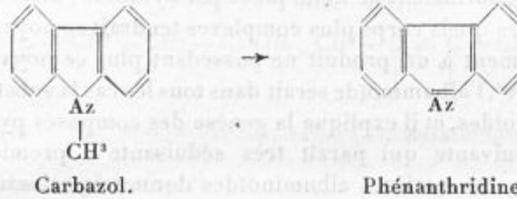
1. ESCHWEILER : *Ber. d. d. chem. Gesell.*, **38**, 880, 1905.

2. NICLOUX : *Bull. Soc. Chim.*, **3**, 939, 1913.

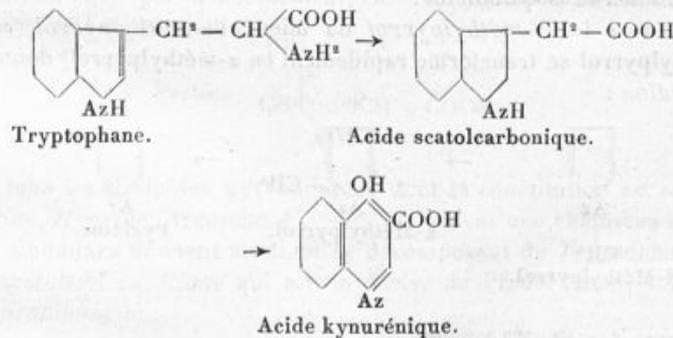
L' $\alpha$ -méthylindol se transformerait en *Quinoléine* :



Le méthylcarbazol ou diphénopyrrol donnerait la *Phénanthridine*, c'est-à-dire le noyau des alcaloïdes du groupe de la morphine :



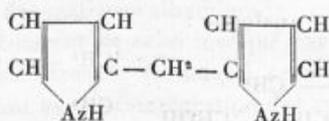
La plante produirait, à froid, par le seul mécanisme des réactions cellulaires, cette transposition moléculaire qui n'a pu jusqu'alors être réalisée *in vitro* que par l'action de la chaleur (<sup>1</sup>). Toutefois, l'organisme animal peut effectuer cette transposition moléculaire, car ELLINGER (<sup>2</sup>), en administrant à des chiens du *tryptophane* (*acide scatolaminoacétique*), a retrouvé dans l'urine de l'*acide kynurénique* ou  $\gamma$ -oxyquinoléine carbonique. Le tryptophane s'oxyde pour donner d'abord l'*acide scatolcarbonique*, et ce dernier subit alors la transformation moléculaire :



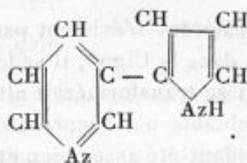
Dans certains cas, PICTET envisage la formation d'un noyau mixte pyridique-pyrrolique en admettant que l'aldéhyde formique se combine à

1. La transformation des corps à noyaux pyrroliques en composés pyridiques se fait assez facilement sous l'action des réactifs violents.
2. ELLINGER : *Loc. cit. Ber. d. d. chem. Gesell.*, 37, 1801, 1904.

deux molécules de pyrrol pour former un méthylène-pyrrol :



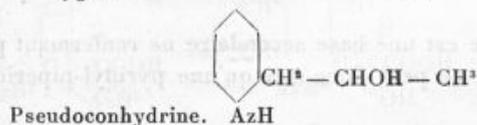
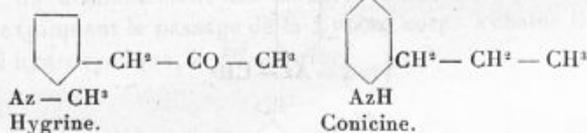
Par transposition moléculaire, on obtiendra un pyridilpyrrol :



Ce noyau, qui a des propriétés nettement basiques, peut, sous une nouvelle action de l'aldéhyde formique, fixer un méthyle sur l'azote et donner le noyau de la *nicotéine*.

L'hypothèse de PICTET n'a donc rien d'in vraisemblable, bien au contraire.

Il est évident que, si nous comparons la formule de l'*Hygrine* avec celle de la *Conicine* et surtout de la *Pseudoconhydrine*, nous retrouvons la même relation que nous venons de signaler entre les produits pyrroliques et leurs produits de transformation :



I. GIAMICIAN et DENNSTEDT<sup>(1)</sup> ont observé que le pyrrol potassé, chauffé avec les composés halogénés suivants :  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CHBr}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{I}_2$ ,  $\text{C}_6\text{H}_5 - \text{CHCl}_2$ , se transforme en dérivés pyridiques. Ces réactions sont en réalité des méthylations indirectes.

II. DENNSTEDT ZIMMERMANN<sup>(2)</sup> ont montré qu'il en était de même avec certains homologues du pyrrol traités simplement par l'acide chlorhydrique.

III. MAGNANINI<sup>(3)</sup> en traitant l' $\alpha$ -méthylindol et le scatol par  $\text{CHCl}_3$  et  $\text{CHBr}_3$ , les a transformés en dérivés halogénés de la *quinoléine* et de la *lépidine*.

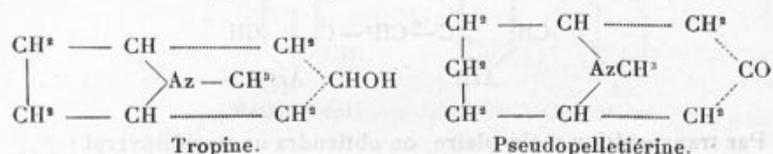
IV. PICTET, en soumettant à la chaleur une série de dérivés pyrroliques méthylés, a transformé ces corps en dérivés pyridiques.

1. GIAMICIAN et DENNSTEDT : *Ber d. d. chem. Gesell.*, **14**, 1153, 1881.

2. DENNSTEDT et ZIMMERMANN : *Ber d. d. chem. Gesell.*, **19**, 2196, 1886.

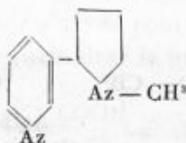
3. MAGNANINI : *Ber d. d. chem. Gesell.*, **20**, 2608, 1887.

La comparaison des alcaloïdes de l'écorce de Grenadier avec l'atropine conduit à une remarque analogue :

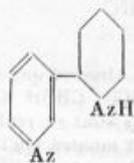


Mais, dira-t-on, ces alcaloïdes n'existent pas dans la même plante et on ne peut admettre que, dans la Ciguë, il se forme d'abord de l'hygrine ou un alcaloïde voisin qui se transformerait ultérieurement en conicine. Jusqu'alors, rien de semblable n'a encore été signalé dans le *Conium maculatum* L. qui a cependant été assez bien étudié. Pour que la théorie précédente trouvât un appui sérieux, il faudrait rencontrer dans le même végétal deux alcaloïdes isomères, dont les deux noyaux ne différeraient entre eux que par les relations précédentes.

PICTET, comprenant tout l'intérêt d'une pareille découverte, a étudié plus spécialement, à ce point de vue, les alcaloïdes du Tabac. Aidé par ROTSCHY (1), il a pu isoler, en outre de la nicotine, trois bases différentes. L'une, la *Nicotimine*, est un isomère de la *Nicotine*,  $\text{C}^{10}\text{H}^{14}\text{Az}^2$ , mais s'en différencie en ce que la nicotine est une base tertiaire renfermant un noyau pyrrolidique méthylé à l'azote :



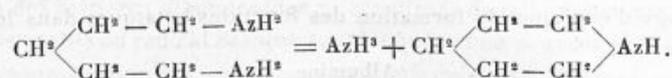
tandis que la nicotimine est une base secondaire ne renfermant pas le noyau pyrrolidique; ce ne peut donc être qu'une pyridyl-pipéridine :



Si la synthèse vérifie la constitution de cet alcaloïde, on aura ainsi un exemple très net permettant de concevoir le passage d'un alcaloïde à noyau pyrrolidique à un alcaloïde à noyau pipéridique.

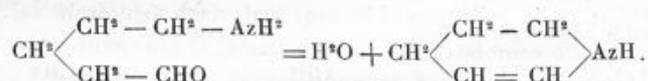
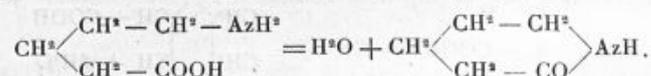
1. PICTET et ROTSCHY : *Arch. d. Sc. phys. et nat.*, Genève (4<sup>e</sup> s.), 12, 209, 1901.

D'ailleurs, le mode de formation des alcaloïdes pyridiques et même pyrroliques, à partir des matières albuminoïdes, pourrait s'expliquer par un mécanisme tout différent de celui invoqué par PICTET. On peut très bien admettre que ces bases se forment à partir des diamines et des amino-acides provenant de la désintégration des matières albuminoïdes. C'est ainsi que la *Pentaméthylènediamine*, par perte d'ammoniaque, donne la *Pipéridine* (1).

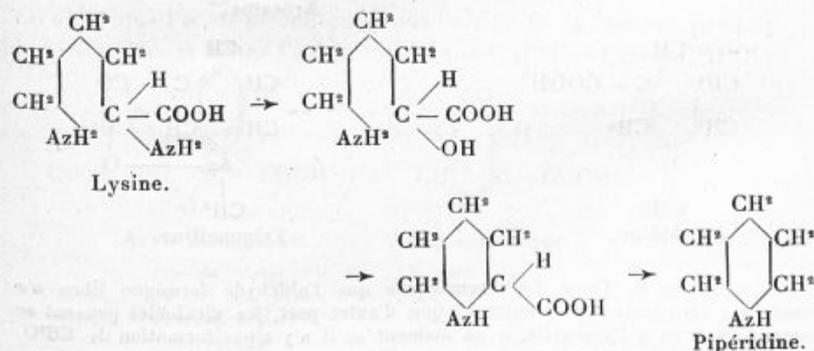


Or la *Lysine*, produit de dédoublement de l'albumine, fournit facilement de la pentaméthylènediamine par perte d'acide carbonique.

L'acide *aminoalérianique*, produit également fréquent dans l'hydrolyse des albuminoïdes, conduit, par perte d'eau, aux *pipéridones* comme l'aldéhyde *aminoalérianique* aux *pipéridéines* :



WINTERSTEIN et TRIER (2) sont partisans de la formation des alcaloïdes à partir du dédoublement des matières albuminoïdes. Ils donnent un schéma expliquant le passage de la *Lysine*, corps à chaîne linéaire, à un composé hydrocycloïque, la *Pipéridine*.

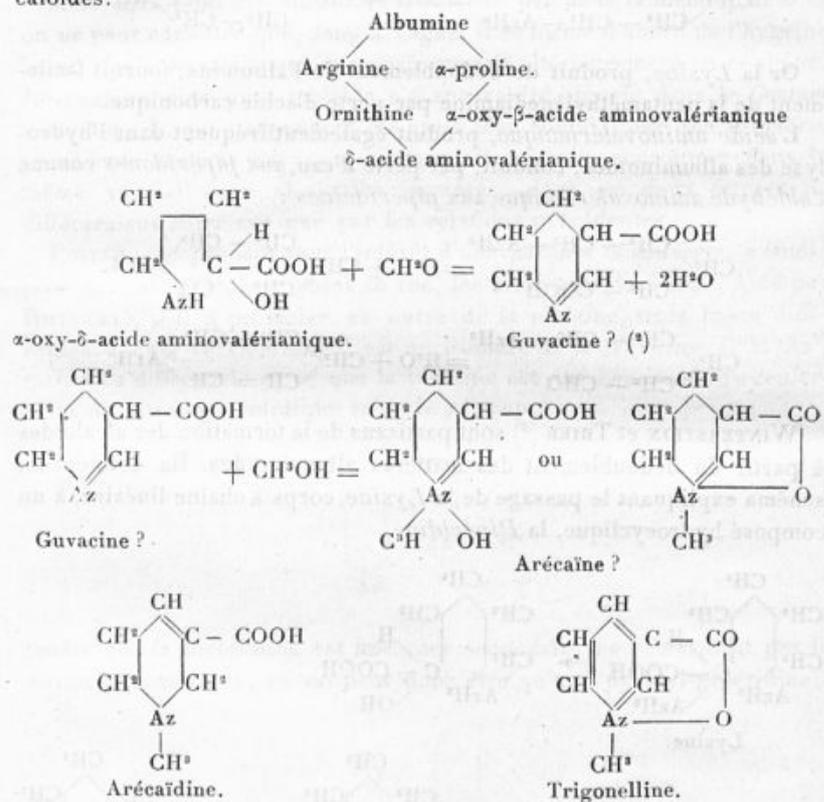


D'après eux, l'hypothèse de PICTET, concernant l'intervention de l'al-

1. La tétraméthylènediamine conduirait de la même façon à la *Pyrrolidine*; l'acide aminobutyrique dans les mêmes conditions donne une *Pyrrolidone*.

2. WINTERSTEIN et TRIER : Die Alkaloide, Berlin, 1910.

déhyde formique dans la formation des alcaloïdes, peut se concevoir tout aussi bien avec les amino-acides qu'avec les dérivés pyrroliques. Mais ils voient, en cet aldéhyde, un agent de condensation et non un agent méthyland (<sup>1</sup>). La méthylation serait le fait de l'alcool méthylique qui existe chez toutes les plantes, à l'état libre ou à l'état d'éther méthylique. Ils donnent un schéma résumant leur conception de la formation des alcaloïdes à partir des substances albuminoïdiques. Cette hypothèse a l'avantage d'expliquer la formation des fonctions bêtaïques dans les alcaloïdes.



1. WINTERSTEIN et TRIER font remarquer que l'aldéhyde formique libre n'a jamais pu être isolé des plantes et que, d'autre part, les alcaloïdes peuvent se former la nuit ou à l'obscurité, à un moment où il n'y a pas formation de  $\text{CH}^2\text{O}$ . L'intervention de ce composé ne peut s'expliquer que par un dédoublement réversible des hydrates de carbone. Pour contester le rôle méthyland de l'aldéhyde formique, ils rappellent que la méthylation d'un composé azoté n'a jamais pu être obtenue par action directe de  $\text{CH}^2\text{O}$ ; cet aldéhyde agit surtout sur les amino-acides en se combinant à la fonction amine, laissant libre la fonction acide (Sørensen).
2. WINTERSTEIN et TRIER adoptent cette formule de la Guvacine qui est différente de celle admise par JAHNS, donnée par nous dans le chapitre sur la constitution des alcaloïdes.

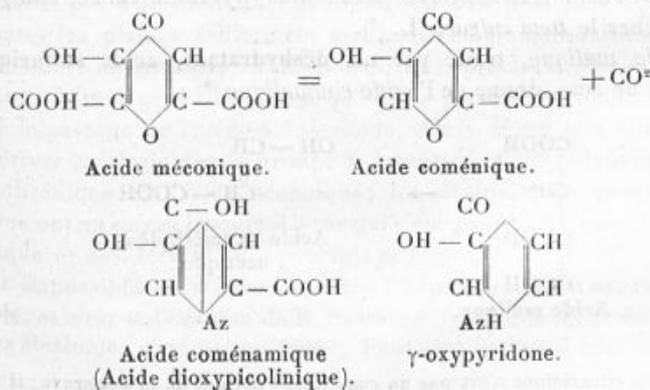
Cette façon de concevoir la formation des alcaloïdes à partir des amino-acides permet d'expliquer plus facilement l'édification des noyaux de la *Conine*, et peut-être même de la *Cocaïne*, à partir de la *Lysine*, et de la *Quinine* en partant du *Tryptophane*.

WINTERSTEIN et TRIER considèrent les alcaloïdes comme des substances de déchet de la plante. Il les définissent de la façon suivante : « des composés azotés qui apparaissent pendant la formation ou la dégradation des matières albuminoïdes et constitués de telle façon que les hydrogènes actifs du radical basique sont bloqués et ne peuvent plus servir à la reconstitution des substances protoplasmiques ». D'après cette définition, les purines non complètement méthylées, la choline, la pyrimidine, etc., ne seraient pas des alcaloïdes ; ils pourraient, comme la lysine, l'arginine et les autres acides aminés, servir à la reconstitution des matières albuminoïdes.

Presque tous les auteurs s'accordent donc à faire dériver les alcaloïdes des matières albuminoïdes, et il semble bien que ce soit leur véritable origine.

Toutefois, DUNSTAN (1), dès 1887, à l'époque où l'on croyait avec KÖNIG que les alcaloïdes dérivait tous de la pyridine, avait émis une hypothèse toute différente et faisait dériver les alcaloïdes des hydrates de carbone. L'amidon et les sucres donnent naissance par oxydation aux acides organiques (*citrique*, *malique*, *méconique*, *chélidonique*, etc.) qui, en se combinant à l'ammoniaque, conduisent aux dérivés pyridiques. DUNSTAN a voulu également étayer sa théorie en montrant que ces transformations étaient réalisables au laboratoire et, par conséquent, possibles dans la plante.

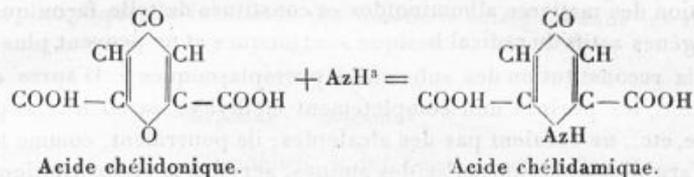
C'est ainsi que l'*acide méconique*, sous l'action de la chaleur, perd de l'acide carbonique et donne l'*acide coménique*  $C^7H^4O^7 = CO^2 + C^6H^4O^5$  :



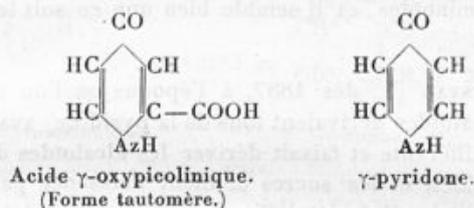
1. DUNSTAN: *Pharm. Journ. and Trans.*, 18, 716, 1887.

Cet acide coménique avec l'ammoniaque donne l'*acide coménamique* qui est un acide dioxypyridine carbonique perdant facilement  $\text{CO}^2$  par action de la chaleur et donnant une *dioxypyridine* ou sa forme tautomère la  $\gamma$ -*oxypyridone*.

De même, l'*acide chélidonique* avec l'ammoniaque peut donner un acide *oxypyridine dicarbonique* qui est susceptible d'être réduit en *paraoxyxyridine*.



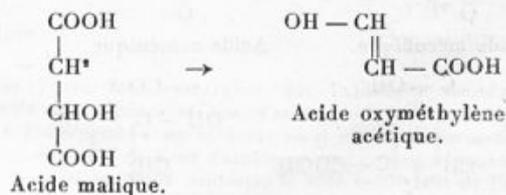
L'acide chélidamique par perte de  $\text{CO}^2$  donne l'acide  $\gamma$ -oxypicolinique :



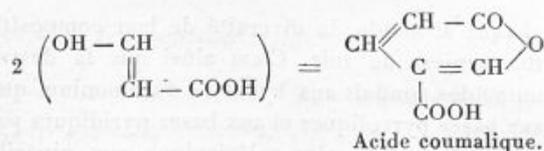
Cet acide, en perdant son carboxyle, donnera la  $\gamma$ -pyridone.

Citons encore l'*acide citrique* qui, en se combinant avec l'ammoniaque, donne la *citramide*  $\text{C}^6\text{H}^3\text{O}^4$  ( $\text{AzH}^3$ )<sup>1</sup>. Ce corps évaporé avec HCl ou  $\text{SO}^3\text{H}^2$  perd les deux tiers de son ammoniaque. Il en reste alors un tiers de combiné, mais il s'est formé un noyau fermé pyridique. Le composé nouveau : l'*acide citrazinique* (*acide dioxypyridine carbonique*) existe parfois chez le *Beta vulgaris* L. (\*).

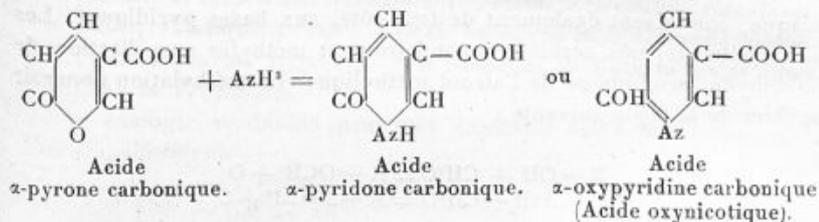
L'*acide malique*, traité par un déshydratant, acide sulfurique ou chlorure de zinc, donne de l'*acide coumalique* (\*):



1. L'acide citrazinique n'est pas un constituant normal de la betterave; il n'a été rencontré que dans des racines conservées dans des conditions défavorables.
2. L'acide coumalique n'a jamais été trouvé chez les végétaux.



Cet acide coumalique est, en réalité, un dérivé de la pyrone: il se combine à froid avec l'ammoniaque et donne l'acide  $\alpha$ -pyridone carbonique qui n'est que la forme tautomérique de l'acide  $\alpha$ -oxyypyridine carbonique. Réduit, cet acide donne l'acide nicotique:



La formation de cet acide en partant de l'acide malique est intéressante, puisqu'elle nous conduit à l'acide nicotique identique à celui qu'on obtient en partant de la nicotine.

Les acides malique et citrique conduisent aux dérivés  $\alpha$  de la pyridine, tandis que les acides méconique et chélidonique conduisent aux dérivés  $\gamma$ .

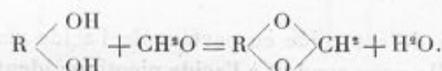
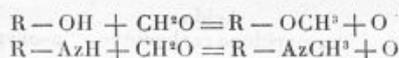
L'hypothèse de DUNSTAN est intéressante puisqu'elle fait dériver les alcaloïdes des acides avec lesquels ils sont combinés.

Mais cette théorie a moins de faveur à l'heure actuelle; elle n'explique pas pourquoi toutes les plantes qui renferment de l'acide malique ne contiennent pas d'alcaloïdes. Il est vrai que l'on peut dire également que toutes les plantes renferment des matières albuminoïdes et qu'un grand nombre ne sont pas alcaloïdiques. Le reproche le plus grave que l'on puisse faire à cette théorie est qu'elle ne permet pas toujours d'envisager le passage de l'acide à l'alcaloïde. Ainsi, il est très difficile de faire dériver les alcaloïdes du groupe de la morphine, possédant un noyau phénanthrénique, de l'acide méconique; les alcaloïdes du groupe de la narcotine ont un noyau isoquinoléique qui s'éloigne encore plus de l'acide méconique et des dérivés qu'il pourrait produire.

Il est impossible de rejeter, *a priori*, l'hypothèse de DUNSTAN. Il est probable, et c'est là l'opinion de E. SCHMIDT<sup>(1)</sup>, que le mode de formation des alcaloïdes n'est pas uniforme. Peut-être varie-t-il avec la nature

1. ERNST SCHMIDT: Altes und neues aus der Alkaloidchemie. *Apot. Zeit.*, 22, 911-916, 1907.

chimique de chaque alcaloïde; la diversité de leur composition permet d'adopter cette manière de voir. C'est ainsi que la destruction des matières albuminoïdes conduit aux hydrates d'ammonium quaternaires, aux purines, aux bases pyrroliques et aux bases pyridiques par méthylation secondaire; l'aldéhyde amino-valérianique aux pipéridéines; les acides aminobutyriques et aminovalérianiques aux pyrrolidones et pipéridones; les diamines aliphatiques donnent des pyrrolidines et des pipéridines; les éthers benzoïques des acides aminés peuvent fournir des dérivés isoquinoléiques (<sup>1</sup>); les hydrates de carbone et par suite les acides, en donnant des pyrones qui se combinent à froid à l'ammoniaque, conduisent également de leur côté, aux bases pyridiques. Les corps ainsi formés seraient secondairement méthylés sous l'action de l'aldéhyde formique ou de l'alcool méthylique. La méthylation pourrait se faire de la façon suivante :

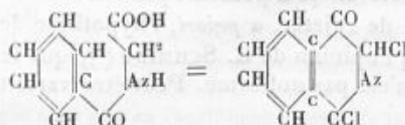


Enfin, une transposition moléculaire pourrait intervenir et transformer le produit par introduction du groupe  $CH^3$  à l'intérieur du noyau primordial.

Mais, dira-t-on, ces modes de formation ne conduisent qu'à des composés possédant un noyau simple; comment expliquer la formation de ces composés à noyaux complexes : pyridique-pyrrolidique, bipyridique, etc. ? Tout d'abord nous avons vu que le noyau indolique et, par suite, quinoléique, pourrait dériver directement de la désintégration des albuminoïdes; la présence de tryptophane dans ces substances de décomposition permet d'envisager ce mode de formation.

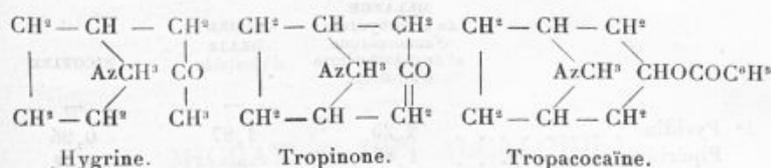
La genèse des noyaux pyridique et pyrrolique associés peut également s'expliquer très simplement (<sup>2</sup>). Considérons les formules de

1. RUGHEIMER en traitant l'acide hippurique par le  $PCl_5$  a obtenu la  $\gamma$ -oxydichloroisoquinoléine.



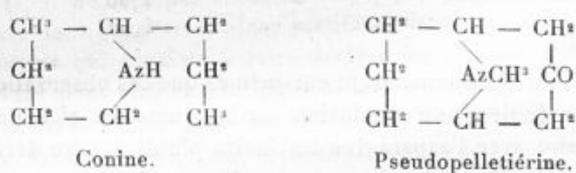
2. CZAPECK: Der Stickstoff im Stoffwechsel der Pflanze. *Ergebnisse der Physiologie*. 1 part. Biochemie 309-331, 1904.

l'Hygrine et de la Tropacocaïne :



Nous voyons que, malgré leur éloignement apparent, ces deux alcaloïdes sont voisins. Il suffit d'une oxydation qui, fermant la chaîne, transforme le noyau pyrrolidique à chaîne latérale en noyau pyrrolidique-pipéridique. Peut-être même arrivera-t-on à isoler de la Coca le terme intermédiaire: la *Tropinone*.

Une analogie semblable peut être constatée entre la *Conine* et la *Pseudopelletiérine* :



On voit donc qu'il est facile de concevoir le passage d'un noyau pyrrolidique à chaîne latérale à un noyau double associant le pyrol et la pyridine.

Les idées précédentes sont purement hypothétiques. Leur vérification expérimentale est tout entière à réaliser. A ce point de vue, en effet, la littérature scientifique ne possède que les travaux de CIAMICIAN et RAVENNA.

CIAMICIAN et RAVENNA se sont efforcés de démontrer expérimentalement la formation des alcaloïdes à partir des bases pyridiques et pyrrolidiques. Leur méthode consiste à injecter de la pyridine, de la pipéridine, de l'acide carbopyrrolidique, de l'asparagine, etc., à des plantes renfermant normalement des alcaloïdes, le *Datura* et le *Tabac*. Ils y dosent ensuite les alcaloïdes et comparent les résultats obtenus avec ceux de plantes témoins. Une augmentation d'alcaloïde dans les plantes soumises à l'expérience plaiderait en faveur de l'hypothèse de PICTET ou de WINTERSTEIN. Si l'on compare les résultats obtenus dans ces expériences sur le *Tabac*, on constate une légère augmentation sous l'action de la pyridine, mais le glucose, l'asparagine agissent plus activement que les bases pyridiques ou pyrrolidiques.

*Expériences sur le Tabac.*

	MÉLANGE de chlorhydrate d'ammoniaque et de chlorhydrate d'alcaloïde	CHLORHY- DRATE d'alcaloïde	NICOTINE
1° Pyridine . . . . .	2,25	1,87	0,96
Pipéridine . . . . .	1,88	»	0,71
Carbopyrrolate de soude.	1,42	»	0,61
Essais de comparaison .	1,80	1,38	0,62
2° Pyridine . . . . .	5,10	2,17	1,10
Essais de comparaison .	3,10	1,43	0,74
3° Asparagine . . . . .	»	2,50	»
Pyridine . . . . .	»	1,81	»
Ammoniaque . . . . .	»	1,93	»
Glucose . . . . .	»	2,15	»
Acide phtalique . . . . .	»	1,52	»
Plantes blessées . . . . .	»	1,90	»
Essais de comparaison .	»	1,49	»

Les auteurs (1) reconnaissent eux-mêmes que ces observations ne permettent pas de tirer une conclusion sur la genèse des alcaloïdes. Le résultat obtenu avec l'asparagine les incite plutôt à faire dériver les alcaloïdes des amino-acides. La présence d'isoamylamine, corps en étroite relation avec la leucine qu'ils ont pu isoler du Tabac, semblerait également étayer l'hypothèse de WINTERSTEIN. De nombreuses recherches sur ce sujet sont encore nécessaires avant de pouvoir se prononcer pour l'une ou l'autre de ces théories.

Evidemment, il n'est pas encore possible d'expliquer le mode de formation de tous les alcaloïdes et en particulier des alcaloïdes du groupe de la morphine.

Nos connaissances sur le mode de formation des alcaloïdes ne peuvent augmenter qu'avec les progrès de la chimie. Il est impossible de tout expliquer du premier jour ; mais l'exposé que nous venons de faire permettra d'avoir un aperçu sur la façon dont peuvent se constituer ces molécules complexes.

1. G. CIAMICIAN et C. RAVENNA. Recherches sur la genèse des alcaloïdes dans les plantes. *Ann. de Chim. et Phys.* (8 s.) 25, 404-421, 1912. *Rendiconti d. r. Accademia dei Lincei*, 20 (1), 614-624, 1911. *Association française pour l'Avanc. des Sciences*, Dijon, 197, 1911.

## II

### MIGRATION DES ALCALOÏDES

#### 1. — *Migration au cours de la végétation.*

Les modes de formation des alcaloïdes que nous venons d'envisager ne nous donnent aucun renseignement sur le rôle de ces substances azotées. Ce sont de pures hypothèses et à ces spéculations, d'ailleurs séduisantes, il ne faut pas accorder une valeur absolue avant qu'elles aient trouvé dans l'expérience leur justification.

L'hypothèse qui consiste à faire dériver les alcaloïdes des matières albuminoïdes peut être exacte, mais nous n'en savons rien. Il est bien évident que, si le moindre fait nous montrait, d'une manière irréfutable, le passage, dans la plante, d'une matière albuminoïde à l'un de ces composés transitoires susceptibles, par oxydation ou méthylation secondaire, de se transformer en alcaloïdes, la nature résiduelle de ces composés serait par cela même prouvée. De même, la moindre expérience prouvant la formation synthétique de ces bases à partir des acides et de l'ammoniaque serait d'un grand appui pour l'hypothèse de DUNSTAN et parlerait plutôt en faveur d'un rôle de nutrition des alcaloïdes. Dans l'incertitude où nous nous trouvons, il faut chercher la solution d'un autre côté. L'étude de la variation des alcaloïdes au cours de la végétation peut, jusqu'à un certain point, nous donner quelques indications à ce sujet. Nous passerons donc en revue les travaux faits dans cette direction en examinant successivement les variations des alcaloïdes dans les plantes adultes, dans les greffes, et lors de la germination.

#### A. — *Variations des alcaloïdes dans les plantes adultes avec les conditions culturales.*

Il ne manque pas de dosages d'alcaloïdes dans les plantes adultes, mais le plus souvent ils ont été faits en vue de comparer la teneur en principe actif de deux individus, sans tenir compte des conditions de leur végétation.

En premier lieu, il nous faudrait citer les résultats des analyses concernant les plantes sauvages et les plantes cultivées. On a cru pendant

longtemps que les plantes sauvages étaient plus riches en alcaloïdes que les plantes cultivées. C'est ainsi que GERRARD (\*) a dressé un tableau de la teneur en principes actifs de la Belladone sauvage ou cultivée.

	BELLADONE SAUVAGE	BELLADONE CULTIVÉE
Racines . . . . .	0,45 p. 100	0,35 p. 100
Tiges . . . . .	0,41 —	0,07 —
Feuilles . . . . .	0,58 —	0,40 —
Fruits . . . . .	0,34 —	0,20 —

Nous pourrions citer d'autres résultats d'analyses qui viendraient tous corroborer cette opinion très ancienne. Cette liste n'aurait d'ailleurs aucun intérêt, car nous savons maintenant très bien que la teneur en alcaloïdes des végétaux peut augmenter considérablement par la culture. C'est ainsi que SCHWEISSINGER a trouvé 0,58 p. 100 d'alcaloïdes totaux dans l'Aconit sauvage et 0,60 p. 100 dans l'Aconit cultivé; MILLER (5) 0,35 p. 100 dans le *Datura* sauvage et 0,51 p. 100 dans la plante de culture; dans l'*Hydrastis* cultivé en Russie, LIELIENTHAL (8) a trouvé 2,99 p. 100 d'hydrastine, alors que la racine sauvage primitivement importée ne titrait que 2,5 p. 100.

L'augmentation des alcaloïdes est déterminée par différents facteurs, parmi lesquels les engrais jouent un très grand rôle. Des essais très concluants ont été faits ces dernières années dans les exploitations agricoles de plantes médicinales. J. CHEVALIER (4), dans les champs de culture de la maison FOUCHÉ, a étudié particulièrement l'influence des engrais sur les Solanées. Bien que le procédé employé par l'auteur donne des résultats peu précis (5), les chiffres obtenus dans les analyses prouvent nettement l'action favorisante des différents engrais :

Belladone provenant d'un champ témoin avec travail et fumure habituels. . . . .	0,320 à 0,326 p. 100
Belladone provenant d'un champ fumé avec acide phosphorique et potasse. . . . .	0,480 à 0,490 —
Belladone provenant d'un champ fumé avec des engrais azotés (azotate de potasse). . . . .	0,676 à 0,680 —

1. GERRARD, cité par LEWIN et POUCHET : *Traité de Toxicologie*, 774, 1903.
2. A. MILLER : *Breeding medicinal plants. Amer. Journ. of Pharm.*, **85**, 291-301, 1913.
3. LIELIENTHAL : *Anbau von Hydrastis canadensis in Russland, Apot. Zeit.*, **28**, 569-570, 1913.
4. J. CHEVALIER : Influence de la culture sur la teneur en alcaloïdes de quelques Solanées. *C. R. Ac. Sc.*, **150**, 344, 1910.
5. L'auteur épuise la plante par l'alcool acétique, évapore au bain-marie, reprend par 150 centimètres cubes d'eau bouillante, sature le liquide par l'éther, y ajoute du carbonate de potasse et épuise l'éther. Les solutions étherées sont distillées et le résidu, redissous dans l'acide sulfurique  $\frac{N}{2}$ , est titré au moyen du réactif de Mayer.

Belladone provenant d'un champ fumé avec des engrais azotés et du fumier de ferme . . . . . 0,756 p. 100

Le *Datura* renfermait 0,20 p. 100 au lieu de 0,10 à 0,125 p. 100 et la *Jusquiame* 0,286 p. 100 au lieu de 0,07 à 0,180 p. 100 dans les champs non fumés.

On voit donc ici que l'emploi de fumier de ferme et d'azotate de potasse a fait doubler le rendement en alcaloïde, tandis que les fumures potassiques et phosphoriques ont produit moins d'effet.

Des résultats analogues ont été publiés par J. HENDERSON (1) qui a étudié méthodiquement la valeur comparative des différents engrais sur la Belladone des cultures de la maison WELLCOME, établies dans un endroit où croissait auparavant la plante sauvage dont le titre était de 0,49 p. 100.

Le tableau suivant nous donnera le pourcentage en alcaloïde dans les plantes cultivées :

ENGRAIS	ÉPOQUE de l'épandage	POUR 40 acres (1)	1906 3 <sup>e</sup> année	1907* 4 <sup>e</sup> année	1910 1 <sup>re</sup> année	1911 2 <sup>e</sup> année	1912 3 <sup>e</sup> année
0	»	»	0,54	0,34	0,61	0,59	0,68
Fumure de ferme.	Mars.	50 charges.	0,54	0,34	0,61	0,53	0,71
Nitrate. . . . .	Mars-Avril.	100 kg	0,52	0,23	0,54	0,46	0,64
Cyanamide. . . . .	Avril.	50 —	»	»	0,69	0,49	0,75
Scories basiques .	—	100 —	0,61	»	0,65	0,56	0,84
Superphosphates .	—	254 —	0,66	»	0,81	0,49	0,76
Potasse . . . . .	—	254 —	0,61	0,40	0,75	0,52	0,69

\* L'année 1907 a été mauvaise au point de vue climatique.

1. L'acre correspond à 0 h. 4046.

Nous avons pu également constater une augmentation d'alcaloïde sous l'influence des engrais, dans la Belladone des cultures médicinales DAUSSE, à Etrechy :

Une Belladone provenant d'un terrain fumé aux superphosphates et engrais radioactifs donne un extrait titrant. . . 3,11 p. 100 (\*)  
 Une Belladone provenant d'un terrain fumé aux superphosphates seulement . . . . . 2,6 —  
 Une Belladone provenant d'un terrain non fumé. . . . . 2,21 —

Si l'on compare les deux tableaux précédents, on voit que, contraire-

1. F. RANSON et HENDERSON : *The Chemist and Druggist*, 81, 432-434, 1912.

2. Le rendement en extrait pour chaque série de plantes était sensiblement le même : 23,54; 23,43; 23,38 p. 100.

ment à l'opinion de CHEVALIER, les engrais phosphoriques et potassiques peuvent amener une augmentation sérieuse des alcaloïdes. C'est qu'en effet, dans ces questions de rendement en principes actifs, la nature de l'engrais n'intervient pas seule. Il y a d'autres facteurs dont il est parfois facile, mais souvent impossible, de contrôler les effets.

FRANCIS RANSON et J. HENDERSON (1) ont très justement fait remarquer le rôle possible de ces différents facteurs dont l'influence nous échappe à première vue. C'est ainsi qu'un sol contenant de la potasse sous une forme peu assimilable reçoit du nitrate de soude avec d'excellents résultats; on en conclut que le nitrate en est la cause. Ce n'est pas tout à fait exact, car il ne l'est que d'une façon indirecte. Le nitrate de soude a rendu la potasse utilisable, alors qu'elle ne l'était pas et, par suite d'une double réaction complexe, très certainement, la potasse est absorbée par la plante. L'effet produit est attribué au nitrate, et ce n'est que par des essais comparatifs, chez lesquels le nitrate ne produit pas le même effet, que le doute s'élève sur l'exactitude de la conclusion primitive.

Il faut également faire intervenir l'état physique du terrain. Le terrain est-il exposé à un vent chaud ou froid? le sol est-il friable? constitué d'argile lourde ou de terre glaise? est-il chaud et humide ou froid et rempli d'eau?

POUR RANSON et HENDERSON, ces facteurs jouent un rôle très important, plus important même, dans la physiologie de la plante et son métabolisme, que les fumures dont on la nourrit artificiellement. On peut facilement contrôler l'action produite par la composition d'un sol, son exposition, la nature de son drainage; on peut y remédier dans une certaine mesure, mais on ne peut guère intervenir pour protéger les cultures du vent, les abriter du soleil, ou les irriguer quand les conditions l'exigent. RANSON et HENDERSON constatent dans leurs expériences, que ce sont les cultures non fumées, mais entièrement exposées au soleil, qui renferment la proportion la plus forte d'alcaloïdes.

Le rôle des conditions climatiques est incontestable. On sait, depuis longtemps, que la Ciguë poussée en Ecosse renferme peu d'alcaloïdes. VOGEL [1866] (2) a fait voir que les Quinquinas cultivés en serre renfermaient peu ou pas d'alcaloïdes (3). DUNSTAN (4) a montré que l'*Hyoscyamus*

1. FRANCIS RANSON et J. HENDERSON : The effect of Cultivation and Fertilisers on the Growths of the Plant and its Alkaloidal Content. *The Chemist and Druggist*, 81, 443-445, 1912.

2. A. VOGEL : Zur chemischen Wirkung des Lichts. *Sitz. Münch Akad.*, 1, 1885; analysé : *Chem. Centralbl.*, 16, 756, 1885.

3. Cette assertion n'est pas tout à fait exacte, les quinquinas cultivés en serre renferment de l'alcaloïde, mais ils en renferment évidemment moins que ceux cultivés en pleine terre dans les pays chauds.

4. DUNSTAN : *Bull. Imp. Institut*, 222, 1906.

*muticus* L. d'Égypte renferme de 0,6 à 1,2 p. 100 d'alcaloïdes, tandis que celui de l'Inde ne titre que 0,3 à 0,4 p. 100. Des données plus précises ont pu être rassemblées depuis que l'on s'occupe méthodiquement de la culture des plantes médicinales; c'est ainsi que le tableau suivant (\*) nous donne la teneur en alcaloïdes des feuilles et tiges de Belladone durant les années 1905 à 1912, pendant lesquelles on a relevé les heures de soleil et la hauteur des pluies.

ANNÉES	ALCALOÏDES	TOTAL DES HEURES	HAUTEUR
		de soleil du 1 <sup>er</sup> mai au 30 juin	de la pluie du 1 <sup>er</sup> mai au 30 juin
	p. 100		en centimètres
1905 . . . . .	0,38	387	13,5
1906 . . . . .	0,54	361	9,65
1807 . . . . .	0,34	290	8,85
1909 . . . . .	0,48	387	13,60
1910 . . . . .	0,61	360	10,20
1911 . . . . .	0,59	404	9,05
1912 . . . . .	0,68	Saison très sèche et ensoleillée.	

On voit donc que les plus hauts pourcentages ont été observés dans les saisons les plus sèches et les plus ensoleillées, tandis qu'en 1905 et 1907, années où il y eut de fortes pluies ou peu de soleil, la teneur était presque de moitié plus faible.

L'auteur a également suivi la variation des alcaloïdes durant une saison et il a pu observer qu'il n'y a pas de variation bien importante de juin à septembre, à condition toutefois que les conditions climatiques ne changent pas.

1905.	Temps très humide . . . .	Août . . . .	0,32 p. 100 (*)
1905.	— . . . .	Septembre .	0,35 —
1906.	Temps très beau, très sec.	Juillet . . .	0,54 —
1906.	— . . . .	Octobre . .	0,64 —
1907.	Temps sombre et humide.	Juin . . . .	0,33 —
1907.	— . . . .	Août . . . .	0,33 —
1909.	Temps beau et sec . . . .	Juin . . . .	0,44 —
1909.	— . . . .	Septembre .	0,48 —

La lumière solaire semble donc jouer un rôle important dans la formation des composés alcaloïdiques; UNGER (\*) avait constaté un fait ana-

1. RANSON et HENDERSON : *The Chemist and Druggist*, loc.cit., 1912.

2. C'est là un point intéressant pour la culture, car on peut faire la récolte des feuilles durant toute la saison de juin à septembre, mais de préférence toutefois par un temps sec et ensoleillé et avant que les plantes ne commencent à se faner; dès que la plante se fane, l'alcaloïde diminue, soit qu'il disparaisse, soit qu'il émigre vers la racine (?)

3. W. UNGER : Zum Kapitel « Folia Belladonæ ». *Apot. Zeit.*, 27, 763, 1912.

logue : des feuilles de Belladone poussée à l'ombre contenaient 0,35 p. 100 d'alcaloïdes et 13,34 p. 100 de cendres ; tandis que, dans des feuilles développées en plein soleil, il trouve 0,40 p. 100 avec 15,67 p. 100 de cendres.

On voit donc que nous sommes loin de l'opinion ancienne qui admettait la supériorité des plantes sauvages sur les plantes cultivées. Il est hors de doute que l'on peut, par une culture raisonnée, obtenir des rendements plus élevés en alcaloïdes. Est-ce à dire que l'on ne pourra pas encore accentuer cette différence ? Cela est très probable. MILLER (\*), à juste raison, fait remarquer que les améliorations obtenues sont dues plus au changement de milieu et à la suppression des espèces végétales concurrentes dans le voisinage qu'à une méthode rationnelle de culture. Celle-ci est encore à trouver. Il est incontestable que la sélection des graines et des plantes, l'isolement des variétés favorables, les essais d'hybridation et de greffage, l'étude méthodique des conditions de sol et de climat permettront encore d'augmenter la teneur en alcaloïdes des végétaux. Il cite à l'appui des variations que l'on peut obtenir le cas de racines d'*Hydrastis* qui, en janvier 1909, renfermaient 2,79 p. 100 d'alcaloïdes et, en 1911, 7,60 p. 100.

L'augmentation des alcaloïdes sous l'influence des engrais ou de l'assimilation n'est pas douteuse ; mais on ne peut en tirer aucune conclusion en faveur du rôle des alcaloïdes. L'activité cellulaire, en s'accroissant, produit naturellement une plus grande quantité de substance nutritive, mais aussi plus de déchets. Nous ne pouvons ranger les alcaloïdes dans un groupe plutôt que dans l'autre.

B. — *Variation des alcaloïdes dans une plante adulte au cours de la végétation normale.*

Nous possédons peu de renseignements sur la variation des alcaloïdes au cours du développement. Une très vieille opinion veut que les alcaloïdes aillent en augmentant jusqu'à la floraison, pour diminuer pendant la période de maturation des fruits et des graines. On en a immédiatement tiré la conclusion que les alcaloïdes servaient à l'édification des albuminoïdes de réserve des semences. Il est incontestable qu'au moment de la floraison et de la fructification, la teneur en alcaloïdes diminue, mais la conclusion qu'on en tire est peut-être prématurée.

J. CHEVALIER (\*) a suivi les variations de la *Spartéine* durant le cours

1. A. MILLER : The improvement of medicinal plants. *Pharm. Journ. and Trans.*, (4 s.), 35, 367-369, 1912.

2. J. CHEVALIER : Variation de la teneur en spartéine du Genêt à balais suivant l'époque de la végétation. *C. R. Ac. Sc.*, 150, 1069, 1910.

d'une année et ses résultats montrent très nettement que cette base se forme pendant la première période de la végétation, pour diminuer brusquement au moment de la floraison et de la formation du fruit. Elle semble même se localiser dans le fruit qui, à maturité, peut en renfermer jusqu'à 11 grammes par kilogramme.

Janvier . . . . .	4,02 p. 100	Juillet . . . . .	3,00 p. 100
Février . . . . .	4,15 —	Août . . . . .	2,33 —
Mars . . . . .	6,80 —	Septembre . . . . .	3,58 —
Avril . . . . .	3,25 —	Octobre . . . . .	4,07 —
Mai . . . . .	2,32 —	Novembre . . . . .	4,75 —
Juin . . . . .	3,27 —	Décembre . . . . .	4,07 —

A l'automne, on voit se former une seconde accumulation dans les organes aériens, mais beaucoup moins importante que celle du printemps. La diminution constatée en août et la forte proportion d'alcaloïde existant dans les fruits semblent parler en faveur d'une migration vers l'appareil florifère, mais ne prouve rien sur la transformation des bases azotées en substances albuminoïdes.

Le dosage des alcaloïdes dans les différentes parties de l'appareil végétatif du *Pilocarpus pennatifolius* Lem. donne une teneur plus élevée pour les organes floraux. Ces analyses ont été faites par TUNMANN et JENZER (1) par le procédé KELLER-FROMME.

Pédoncule floral . . . . .	0,51 p. 100
Boutons floraux . . . . .	0,44 —
Axe des fleurs . . . . .	0,27 —
Folioles . . . . .	0,26 —
Pétioles . . . . .	0,23 —
Tige jeune de 1 à 2 ans sans liège . . . . .	0,18 —

FELDHAUS a suivi la variation des alcaloïdes dans les différents organes d'une plante, depuis la graine jusqu'à l'apparition des semences de l'année suivante. Ces dosages ont été faits sur le *Datura Stramonium* L. Voici les chiffres obtenus :

Semence primitive (1900) . . . . .	0,33 p. 100
Racine principale . . . . .	0,10 —
Radicelles . . . . .	0,25 —
Axe principal . . . . .	0,09 —
Axe des rameaux supérieurs . . . . .	0,36 —
Feuilles . . . . .	0,39 —
Pistil . . . . .	0,54 —
Corolle . . . . .	0,43 —

1. O. TUNMANN et JENZER : Pharmacognostische Untersuchung, über *Pilocarpus pennatifolius* Lem. und *Erythroxyton Coca* Lam. mit besonderer Berücksichtigung ihrer Alcaloïde. *Schweiz. Woch. f. Chem. u. Pharm.*, 48, 17-24, 1910.

Calice . . . . .	0,30 p. 100
Péricarpe mûr. . . . .	0,082 —
Placentas des fruits mûrs. . . . .	0,28 —
Semences mûres (1901). . . . .	0,48 (1) —
Plantes obtenues avec des semences. . . . .	0,67 —

FELDHAUS a également suivi la variation des alcaloïdes pendant la maturation des graines. Il a fait des dosages à quatre stades différents :

1° Dans la semence très petite, blanche, ne contenant que très peu d'huile ;

2° A un stade plus avancé ; la graine a atteint sa grandeur normale, mais était blanche encore ou à peine brunâtre ;

3° Peu de temps avant la maturité complète, avant que la capsule soit ouverte ;

4° Dans les fruits complètement mûrs.

	SEMENCE	PÉRICARPE	PLACENTA
1° . . . . .	0,33	0,34	»
2° . . . . .	0,54	0,29	0,28
3° . . . . .	0,47	0,082	0,16
4° . . . . .	0,48	0,082	0,28

On voit que c'est pendant le stade de grande activité que le pourcentage en alcaloïde est le plus élevé.

Dans d'autres plantes, comme par exemple le Thé, les organes végétatifs seront plus riches que les organes de reproduction [VAN ROMBURGH et LOHMANN] (2).

Fleurs : Pétales . . . . .	0,8 p. 100 de caféine.
— Sépales verts . . . . .	1,5 — —
Fruits : Péricarpe vert. . . . .	0,6 — —
— Graine . . . . .	0,0 — —
Première et seconde feuilles . . . . .	3,4 — —
Cinquième et sixième feuilles. . . . .	1,5 — —
Tige entre cinquième et sixième feuilles. . . . .	0,50 — —
Poils de jeunes feuilles. . . . .	2,2 — —

Dans le Café (*Coffea liberica* Hiern) le pourcentage de caféine dans les différents organes est le suivant :

Pétales. . . . .	0,30 p. 100 de caféine.
Péricarpe vert . . . . .	traces — —
Graines non mûres . . . . .	1,20 — —

1. La teneur en alcaloïde varie chaque année suivant les conditions climatiques. En 1900 on trouve 0,33 p. 100, en 1901, 0,17 pour 100 et en 1902 0,34 p. 100.

2. VAN ROMBURGH et LOHMANN : Onderzoekingen betreffende of Java gecultiveerde Theeën. *Verslag omtrent den Staat van's Lands Plantentuin te Builenzorg*, 159, 1896.

Péricarpe rouge . . . . .	traces	p. 100	de caféine.
Graines mûres . . . . .	1,30	—	—
Téguments . . . . .	traces	—	—
Jeunes feuilles . . . . .	0,9	—	—
Jeunes tiges . . . . .	1,1	—	—
Ecorce . . . . .	traces	—	—

Les expériences de CHUARD et MELLET<sup>(1)</sup> sur le Tabac, donnent également un rendement plus élevé en alcaloïde pendant la période de végétation. Le dosage de la nicotine a été fait par le procédé MELLET, après l'écimage, l'ébourgeonnage et la récolte des feuilles de plants de Tabac cultivés par semis sur couche, puis repiqués en pleine terre.

Le semis a été fait le 25 avril 1911; les plantes examinées le 15 mai, avant le repiquage, renferment des traces non dosables de nicotine. Le 16 juin, les feuilles en renfermaient 0,35 p. 100 et les racines 0,15 p. 100. A partir de ce moment, le dosage a été fait tous les mois.

	FEUILLES	TIGES	RACINES	REPOUSSES	SOMMITÉS
16 juillet, aussitôt après l'écimage . .	0,34	0,08	0,45	»	0,49
2 août, après l'enlèvement des bourgeons axillaires . . . . .	3,12	0,61	0,69	1,04	»
18 septembre, au moment de la récolte des feuilles . . . . .	4,79	0,52	0,64	1,27	»
6 novembre, au moment des premiers gels (les tiges complètement effeuillées depuis le 25 septembre ont formé de nouvelles pousses) . . .	»	0,47	0,47	1,04	»

Les chiffres sont rapportés à 100 grammes de substance sèche.

Il y a donc nettement diminution de la teneur en alcaloïdes à mesure que la plante vieillit.

TUNMANN et JENZER ont constaté une diminution semblable dans les feuilles de Coca.

KELLNER, MAKINO et OGASAWARA<sup>(2)</sup> ont fait des dosages dans les feuilles de Thé, le 1<sup>er</sup> et le 15 de chaque mois. Ils constatent ainsi que la pro-

1. CHUARD et MELLET : Variation de la proportion de nicotine dans les divers organes de la plante du Tabac au cours de la végétation. *C. R. Ac. Sc.*, **155**, 293, 1912.

2. O. KELLNER, K. MAKINO et K. OGASAWARA : Die Zusammensetzung der Theeblätter in verschiedenen Vegetationsstadien. *Die Landwirthsch. Versuchsstationen*, **33**, 370, 1886, 1887.

portion de caféine, qui était de 2,85 p. 100 le 15 mai, est tombée à 1 p. 100 le 30 novembre.

Comme, d'autre part, la substance albuminoïde a augmenté, ils en concluent que la diminution de caféine est compensée par une augmentation d'albumine. Ils admettent alors que la caféine est un produit de dédoublement des albuminoïdes pouvant éventuellement servir à reformer des albumines. C'est peut-être aller un peu vite !

CLAUTRIAU n'a pas manqué de faire remarquer, avec juste raison, que rien ne prouve que cette augmentation des substances protéiques vienne des alcaloïdes. La plante a vécu du 15 mai au 30 novembre, le poids de ses rameaux a augmenté. En admettant que la quantité absolue de caféine n'ait pas varié, par suite de cette augmentation de poids, le pourcentage a forcément diminué. D'autre part, l'augmentation d'albumine peut s'expliquer plus naturellement par un apport d'azote venu du sol. KELLNER et ses collaborateurs auraient dû déterminer les quantités totales par plantes et par rameau et voir si, dans ces conditions, la plante a gagné ou perdu de l'alcaloïde au cours de son développement.

WEEVERS et M<sup>me</sup> WEEVERS DE GRAFF<sup>(1)</sup>, à la suite d'une série de recherches poursuivies à Buitenzorg, affirment également que les dérivés xanthiques, produits de dédoublement des albuminoïdes, rentrent de nouveau dans le cycle nutritif de la plante. Ils font remarquer que ces substances disparaissent peu de temps avant la chute des feuilles, tandis que l'écorce des vieilles branches qui portent ces feuilles est privée d'alcaloïdes ou en renferme très peu. L'alcaloïde n'y est donc pas mis en réserve et, comme il n'existe plus dans les feuilles, il faut donc qu'il ait été réassimilé. Ces dérivés apparaîtraient donc comme des produits intermédiaires et non comme des produits finaux de la désintégration des matières albuminoïdes

Feuilles de 0,50 à 2,5 de longueur. . . . .	1,454 p. 100
— de 3,00 à 5,0. . . . .	1,227 —
— de 6,00 à 8,0. . . . .	0,808 —

Dans les feuilles de Caféier, VAN ROMBURGH et LOHMANN ont trouvé : pour les feuilles jeunes du *Coffea arabica* L. 1,60 p. 100 de caféine et dans les feuilles adultes 1,10 p. 100. Dans le *Coffea liberica* Hiern, on a trouvé 0,60 p. 100 pour les feuilles jeunes et zéro pour les feuilles adultes. Tous ces faits concordent et sont significatifs.

Mais qu'il y ait une diminution des alcaloïdes avec l'âge de la plante, c'est incontestable ; qu'une migration se fasse vers les organes de repro-

1. TH. WEEVERS et M<sup>me</sup> WEEVERS DE GRAAF : Untersuchungen über einige Xanthin-derivate in Beziehung zum Stoffwechsel der Pflanzen. *Konigl. Akad. v. Wetenschappen te Amsterdam*. 203, 1903.

duction, c'est possible ; qu'il y ait une transformation des alcaloïdes en matières albuminoïdes, rien ne le prouve. C'est une déduction qui vient naturellement à l'esprit lorsqu'on admet le transport vers la graine. Mais nous devons dire que, jusqu'ici, aucun fait n'est venu appuyer cette opinion et nous pourrions même ajouter que les expériences de CLAUTRIAU contredisent complètement cette manière de voir.

CLAUTRIAU a pu constater que la graine mûre de Pavot ne renferme pas d'alcaloïdes et qu'il ne s'en forme, ni pendant la germination, ni pendant la première période de végétation. Il faut que la plante ait acquis 10 centimètres pour que l'on puisse y constater la présence d'alcaloïdes. À partir de ce moment, la richesse va en croissant jusqu'à ce que la capsule arrive à son complet développement. Alors, pendant la maturation des graines, les alcaloïdes diminuent petit à petit, et lorsque la plante, ayant mûri ses semences, se dessèche, tous les alcaloïdes ont disparu. Si l'alcaloïde a servi à la formation des matières albuminoïdes, il devra y avoir, en même temps que la diminution de l'azote alcaloïdique, augmentation de l'azote albuminoïdique. Pour vérifier ce fait, CLAUTRIAU a opéré comme il suit :

Il prend des capsules de Pavot aussi semblables que possible, recueillies aussitôt après la chute des pétales. Il coupe les pédoncules à 5 centimètres environ de la capsule et, les plongeant dans l'eau, il laisse écouler l'excès de latex. Il enlève ensuite le latex coagulé et fait trois lots identiques. Le premier lot est pesé et analysé tout de suite, le second lot pesé est abandonné à l'air, la dessiccation s'y fait lentement. Pendant les trois ou quatre jours que dure l'opération, il se produit des échanges intimes sous l'action de la lumière et de l'oxygène. Le troisième lot, après avoir été pesé, est placé sur une mousseline tendue au-dessus d'un cristalliseur contenant de l'eau distillée, les pédoncules traversant la gaze plongent leur extrémité dans le liquide. On recouvre le tout d'une grande cloche pour maintenir l'atmosphère humide. En opérant de cette façon, on supprime toutes les causes d'erreurs pouvant provenir d'un apport de matériaux azotés des feuilles vers le fruit. La capsule doit donc fournir aux graines tout l'aliment nécessaire à leur complet développement. Il suffira de doser l'azote sous ses formes albuminoïdique, nitrique, alcaloïdique, pour constater les changements survenus au cours de la maturation.

La technique employée est la suivante :

On sépare les graines, on découpe la capsule en petits morceaux et on la met à macérer dans l'alcool absolu additionné de 2 p. 1000 d'acide tartrique. Ce traitement est répété plusieurs fois et finalement à chaud jusqu'à ce que l'alcool passe incolore et ne laisse plus de résidu à l'évaporation. On réunit les liqueurs et on les distille ; on reprend par l'eau, on filtre pour séparer la chlorophylle et on évapore à nouveau en consistance d'extrait sirupeux. On reprend alors par suffisamment d'alcool absolu, à chaud, pour dissoudre les tartrates et nitrates d'alcaloïdes. Cette seconde liqueur alcoolique est évaporée à nouveau, reprise par l'eau acidulée par l'acide chlorhydrique et traitée par l'acide phosphomolybdique. On recueille le précipité de phosphomolybdate d'alcaloïde, on le lave à l'eau acidulée puis

à l'eau pure ; on le sèche et on le pèse. On exprime ces alcaloïdes en morphine.

Dans la liqueur débarrassée des alcaloïdes et à laquelle on ajoute les eaux de lavage du précipité phosphomolybdique, on dose les nitrates par la méthode de SCHLÆSING.

Le dosage des matières albuminoïdes se fait par le procédé WILL et WARRENTRAP, en opérant sur le résidu séché et pulvérisé du traitement à l'alcool tartrique.

Les semences ont été traitées de la même façon.

Les chiffres obtenus dans ces dosages sont consignés dans ce tableau :

POIDS FRAIS	1 <sup>er</sup> LOT 172 grammes		2 <sup>e</sup> LOT 175 grammes		3 <sup>e</sup> LOT 179 grammes	
	Semences	Capsules	Semences	Capsules	Semences	Capsules
Poids sec. . .	1 gr. 906	13 gr. 21	2 gr. 072	1½ gr. 50	4 gr. 07	11 gr. 10
Azote albumi- noïdique . .	0,1155	0,2840	0,0795	0,2565	0,1069	0,2070
Azote nitrique.	0,0076	0,1087	0,0021	0,0181	0,0021	0,0129
Alcaloïdes. . .	0,0039 (1)	0,0817	0	0,0787	Traces ?	0,0130

1. La petite quantité d'alcaloïdes provient des placentas difficiles à séparer des graines.

On voit donc que la quantité d'azote alcaloïdique va diminuant dans la capsule (1), elle est primitivement de 0,0817, puis tombe à 0,013 dans la capsule où les phénomènes vitaux ont pu se manifester assez longtemps. Les graines ne renferment pas d'alcaloïdes.

L'azote nitrique diminue rapidement par le fait de l'assimilation de la plante et il en reste finalement une petite quantité qui n'a pu être assimilée.

Quant à l'azote albuminoïdique, il va diminuant de la première à la troisième série, dans les capsules, et n'a presque pas varié dans les graines. En tout cas, il n'y a pas eu un accroissement corrélatif avec la diminution des alcaloïdes dans la capsule.

En additionnant l'azote des albuminoïdes et l'azote nitrique dans chaque série, on trouve :

Pour la 1 <sup>re</sup> série	un total de	0,5158	et	0,0856	d'alcaloïdes
Pour la 2 <sup>e</sup> série	— de	0,3562	et	0,0787	—
Pour la 3 <sup>e</sup> série	— de	0,3287	et	0,0130	—

Il y a eu disparition de (0,0856 — 0,0130) 0,0726 d'alcaloïde et comme cet alcaloïde renferme environ 4,90 p. 100 d'azote, c'est donc une perte

1. CLAUTRIAU : L'azote dans les capsules de Pavots. *Bull. Soc. Belge de Microsc.*, 18, 80, 1892.

de 0,00355 d'azote, ce qui est un chiffre dérisoire<sup>(1)</sup>. En réalité, le bilan d'azote de la capsule se chiffre par un déficit qui porte principalement sur toutes les matières azotées.

Dans la première série, l'azote total est de 0,5199 et dans la troisième série de 0,3295, soit une diminution de 0,1904 ; il y a donc eu une diminution de 36 p. 100. L'azote albuminoïdique a passé de 0,3995 à 0,3139, soit une diminution de 0,0856, c'est-à-dire de 21 p. 100!

Nous voilà donc loin d'une utilisation de l'azote alcaloïdique pour la construction des matières albuminoïdes.

Que devient cet azote? Il est évident, puisqu'on ne le retrouve sous aucune des trois formes, qu'il doit se dégager dans l'atmosphère; mais il est impossible de dire à quel état il peut ainsi disparaître.

Ce dernier point est très important et mérite d'être repris. Si l'azote peut s'éliminer de cette façon pendant la végétation, cela pourrait expliquer beaucoup de faits concernant la variation des alcaloïdes et en particulier la diminution des alcaloïdes que l'on constate lors de la dessiccation des végétaux. TUNMANN et JENZER<sup>(2)</sup> ont constaté que les feuilles de *Pilocarpus*, abandonnées dans un endroit sec, perdaient très peu d'alcaloïdes, tandis que, dans un endroit humide, elles en perdaient 50 p. 100. Des faits analogues ont été signalés par différents auteurs; nous ne rapporterons pas leurs chiffres qui allongeraient inutilement ce chapitre. On a parfois attribué cette perte à une utilisation de l'alcaloïde par la plante qui continue à vivre pendant un court espace de temps. Si la remarque de CLAUTRIAU sur les capsules de Pavot se vérifiait sur les feuilles et les tiges (et l'on ne voit pas pourquoi il en serait autrement), les partisans de l'alcaloïde, substance de déchet, trouveraient là un excellent argument à l'appui de leur théorie.

De l'étude de la variation des alcaloïdes dans la racine, on a pensé tirer quelques indications sur leur rôle. La racine de Belladone est un organe de réserve qui sert à la formation d'organes aériens, et si les alcaloïdes sont employés à cette construction, la teneur, au cours de la végétation, variera dans cette racine.

HENDERSON<sup>(3)</sup> a montré que la variation au cours d'une année était nulle. Il a dosé les alcaloïdes dans des racines de deux ans et a trouvé :

Mars 1911. . . . .	0,56 p. 100	Août . . . . .	0,50 p. 100
Mai. . . . .	0,50 —	Décembre. . . . .	0,59 —
Juin . . . . .	0,53 —		

1. Une seconde expérience faite dans des conditions un peu différentes, a donné les mêmes résultats à CLAUTRIAU.

2. O. TUNMANN et JENZER : *Schweiz. Woch. f. Chem. u. Pharm.*, loc. cit., 48, 17-24, 1910.

3. HENDERSON : *The Chemist and Druggist*, loc. cit., 1912.

LAURENT (<sup>1</sup>), lors de ses recherches sur les greffes des Solanées, a prélevé des racines de Belladone au commencement de novembre, alors que la plante est dépouillée de son appareil aérien, et à la fin de février, au moment où la Belladone a repris son activité, sans avoir toutefois formé de parties vertes. Si les alcaloïdes ont été employés, on observera une diminution de leur pourcentage ; si, au contraire, il n'y a aucune variation, c'est que ces substances accumulées n'ont pas été utilisées dans la première période de végétation. En somme, son expérience complète celle de HENDERSON.

RACINES DE 1 AN		RACINES DE 4 ANS				RACINES de 7 à 8 ans		JEUNES POUSSÉS	
Alcaloïdes p. 100		Échantillon n° 1		Échantillon n° 2		Échantillon n° 1		Échantillon n° 2	
Nov.	Février	Nov.	Février	Nov.	Février	Nov.	Février	de 4 ans	de 8 ans
0,295	0,288	0,365	0,341	0,382	0,407	0,212	0,225	0,310	0,300
0,308	0,311	0,355	0,315	0,413	0,400	0,196	0,213	0,318	0,289
0,293	0,297	0,338	0,334	0,385	0,387	0,228	0,208	0,324	»
0,296	0,293	0,349	0,356	0,406	0,397	0,215	0,221	»	»
0,312	0,308	0,369	0,371	0,396	0,412	0,221	0,216	»	»

Si l'on consulte les tableaux, on voit que la quantité d'alcaloïde n'a guère varié ; le pourcentage est resté presque identique aux deux périodes. Il semblerait donc n'y avoir aucune utilisation de ce produit azoté.

Toutefois, LAURENT fait remarquer que, de novembre à février, la Belladone, avec ses seules réserves, a fabriqué de jeunes pousses souterraines qui renferment de l'atropine, ainsi que l'indique le tableau. Cette atropine ne peut venir que de deux sources : 1° de l'atropine préexistante ; 2° d'une nouvelle production aux dépens des réserves accumulées et utilisées dès la reprise de la végétation.

LAURENT semble admettre qu'il y a eu utilisation d'atropine. Il fait remarquer que, par suite de la production de nouveaux tissus aux dépens de la racine primitive, le poids brut de cette racine a diminué et qu'alors, si l'alcaloïde était resté intact, il aurait dû y avoir augmentation de son pourcentage. Comme la teneur n'a pas varié, on est amené à supposer, dit-il, qu'une certaine quantité de cet alcaloïde a été appelée dans les bourgeons.

Le raisonnement de LAURENT, qui paraît logique jusqu'à un certain

1. LAURENT : *Revue bretonne de botanique*, n° 2, 71-77, 1906.

point, ne permet cependant pas de conclure en faveur du rôle nutritif de l'alcaloïde. Quelle est la diminution de poids de la racine? Quelle est l'augmentation due aux jeunes pousses? La somme d'alcaloïdes contenue dans la racine et les jeunes pousses de février n'est-elle pas *égale* ou même *supérieure* à celle contenue dans la racine de novembre? Si cette quantité est équivalente, il faut admettre que l'alcaloïde s'est transporté dans les jeunes pousses sans y subir de modification, et alors il n'a joué aucun rôle nutritif. Si l'on suppose qu'il a servi à l'édification des nouveaux tissus, il faut admettre — pour retrouver le même chiffre — qu'il s'est formé dans la jeune pousse une nouvelle quantité d'alcaloïde aux dépens des matériaux de réserve. C'est donc reconnaître que ces substances sont des résidus des matériaux de construction. Le raisonnement serait encore plus démonstratif si la somme d'alcaloïde trouvée en février était *supérieure* à celle de novembre.

LAURENT admet que l'atropine se forme seulement dans les parties vertes des plantes (1) et penche pour l'utilisation des alcaloïdes de la racine. Ses expériences ne lui permettent pas de tirer cette conclusion. Il ne pourrait le faire qu'au cas où il constaterait une réelle diminution dans la somme des alcaloïdes, en février; or, les chiffres qu'il donne ne semblent pas indiquer une bien grande diminution; dans certains cas, il y a même présomption pour une légère augmentation. Supposons, en effet, que la racine ait perdu 10 p. 100 de son poids pendant la période hivernale et qu'il ne se soit formé que 10 p. 100 du poids de cette racine en pousses. Un poids de 1.000 grammes de racines renfermait, en novembre, 2,95 d'alcaloïde et 900 gr. de racines, et 100 gr. de pousses en février en contiennent  $2,59 + 0,31$ , soit 2,90; pour le second exemple on trouverait 3,08 et 3,11. Notre raisonnement ne peut s'appliquer évidemment qu'à des racines et des pousses de même provenance; mais, si l'on fait le calcul pour tout le tableau, on verra que, pour dix des cas, il y a une légère augmentation et, dans les dix autres cas, il y a diminution. L'écart dans 12 cas ne dépasse pas quelques centigrammes (2).

Dans ces conditions, nous voyons que l'on ne peut guère tirer une conclusion en faveur d'une utilisation des alcaloïdes à la reprise de la végétation.

Les variations des alcaloïdes au cours de la végétation : augmentation à l'époque de la floraison, diminution avec l'âge de la plante, ne peuvent donc être interprétées en faveur d'un rôle nutritif possible de ces substances.

1. L'alcaloïde peut aussi se former à l'obscurité dans la germination des graines.
2. La plus grande différence constatée est une diminution de 0,041 centigrammes pour 0,355, mais dans les autres exemples où l'on trouve des diminutions ou des augmentations, celles-ci ne dépassent pas 0,025 dans un sens ou dans l'autre.

C. — Variations provoquées sous l'influence de divers facteurs extérieurs.

1° LUMIÈRE. — Une autre méthode permettant d'étudier les variations des alcaloïdes pendant la végétation est celle qui consiste à faire végéter les plantes à l'obscurité. Le végétal commence par utiliser ses réserves nutritives et, très rapidement, perd l'amidon qu'il contient. Si donc les alcaloïdes sont des substances de réserve au même titre que l'amidon, ils devront disparaître en même temps que ce dernier. Des expériences en ce sens ont été faites par divers expérimentateurs.

CLAUTRIAU<sup>(1)</sup> a cultivé des jeunes plantes de *Coffea liberica* Hiern dans une grande caisse remplie de terre et placée à l'obscurité. Le premier jour de l'expérience, la proportion de caféine était de 0,51 p. 100; après douze jours d'obscurité, elle était de 0,44 p. 100 et, au bout de vingt-six jours, de 0,60 p. 100.

Ces résultats montrent que la caféine ne disparaît pas à l'obscurité. On ne peut invoquer la différence observée en faveur d'une augmentation de l'alcaloïde, car CLAUTRIAU fait remarquer qu'entre les différents individus d'un même lot de *Coffea*, il existe souvent d'assez grandes variations dans la teneur en caféine.

Nous devons nous demander si les résultats obtenus sont bien le fait du hasard et si, dans les plantes analysées après un séjour de vingt-six jours à l'obscurité, il n'y avait pas réellement augmentation de caféine. Nous verrons que les expériences d'annélation en milieu privé de CO<sup>2</sup> semblent en effet autoriser cette conclusion.

En opérant sur une plante entière de *Thea sinensis* L., CLAUTRIAU obtint des résultats analogues. Un certain nombre de rameaux prélevés au début de l'expérience contenaient 1,9 p. 100 de caféine; après dix jours de séjour à l'obscurité, la proportion de caféine était de 1,33 p. 100. Dans une seconde expérience, la teneur initiale était de 1,59 p. 100 et, à la fin de l'expérience, bien que la plante fût morte, on y trouvait encore 1,61 de caféine dans les feuilles desséchées et brunies.

Ces résultats ne sont pas spéciaux aux plantes à caféine, par conséquent à celles qui renferment un alcaloïde qui est très probablement une substance de déchet. LOTSY<sup>(2)</sup>, en opérant sur des *Cinchona succirubra* Pav., a pu constater, par des recherches microchimiques, que le séjour à l'obscurité ne faisait pas disparaître les alcaloïdes. TUNMANN et JENZER<sup>(3)</sup> ont constaté également que si l'on met des plants d'*Erythroxylon Coca* Lam. à l'abri de la lumière, les feuilles ne tardent pas à devenir légè-

1. CLAUTRIAU : Nature et signification des alcaloïdes végétaux, *loc. cit.*, 69.

2. LOTSY : De localisatie van het alcaloïd in *Cinchona Calisaya Ledgeriana* Wedd. en in *Cinchona succirubra* Pav. *loc. cit.* Batavia.

3. O. TUNMANN et JENZER : *Loc. cit.*

rement jaunâtres. Dans de tels organes, l'amidon a disparu, mais il n'y a aucune diminution d'alcaloïdes.

Ces expériences ne sont donc guère en faveur d'une utilisation possible des substances alcaloïdiques à l'obscurité.

2° EXPÉRIENCES D'ANNÉLATION. — Les *incisions annulaires* que l'on pratique sur les rameaux des plantes y produisent des modifications chimiques intéressantes, permettant parfois de juger de la valeur nutritive de certaines substances.

CLAUTRIAU, lors de son séjour à Java, a pratiqué toute une série d'expériences semblables sur le Café et le Thé, pour étudier le rôle de la caféine et des autres alcaloïdes. Il a suivi, pour tous ces essais, une technique analogue à celle employée par TREUB dans ses recherches sur les plantes à acide cyanhydrique. Nous ferons toutefois remarquer que le choix des plantes à caféine pour étudier le rôle des alcaloïdes n'est pas très justifié. Nous avons vu que la caféine est un alcaloïde à noyau purique, qui dérive très vraisemblablement de la destruction des nucléoprotéïdes et, par suite, est probablement un produit de déchet. Opérer sur ces plantes, c'était aller au-devant d'un résultat presque connu d'avance. Il eût été préférable d'opérer sur un alcaloïde à noyau pyridique ou pyrrolique, mais alors les conditions d'analyse n'eussent peut-être plus été aussi favorables. Quoiqu'il en soit, les recherches de CLAUTRIAU sont très intéressantes : elles donnent une méthode pour des études analogues et ses résultats établissent presque sûrement le rôle de déchet de la caféine.

Examinons donc en détail les travaux de CLAUTRIAU. Les expériences d'annélation sont facilement réalisables sur le *Coffea*. Le Caféier donne, en effet, des rameaux opposés qui sont toujours très comparables entre eux : ils présentent un même développement et portent chacun un nombre égal de paires de feuilles. Leur teneur en caféine est identique. Cette disposition est très avantageuse pour les expériences d'annélation. On peut anneler un seul rameau et laisser l'autre intact, qui sert ainsi de témoin et qu'on peut enlever, pour analyse, soit au début, soit à la fin de l'expérience.

Voici les résultats de quelques-unes des recherches de CLAUTRIAU :

Rameaux annelés le 10 décembre et coupés le 7 janvier :

1° Rameaux annelés . . .	32,93 p. 100 de matière sèche et 0,68 p. 100 de caféine
Témoins non annelés . . .	27,77 — de — et 0,97 — —

Quatre rameaux annelés le 19 décembre et cueillis le 12 janvier :

2° Rameaux annelés . . .	22,47 p. 100 de matière sèche et 0,81 p. 100 de caféine
Témoins non annelés . . .	19,45 — de — et 1,04 — —

Ces annélations avaient été faites à la base des rameaux. Sur d'autres

échantillons, on a pratiqué des incisions annulaires vers le milieu des rameaux, de façon à pouvoir analyser séparément la partie supérieure et la partie inférieure de ceux-ci. L'expérience est arrêtée au bout d'un mois et les quatre parties soumises à l'analyse :

Rameau annelé (partie supérieure) . . . . .	0,61	p. 100
— témoin — . . . . .	0,20	—
— annelé (partie inférieure) . . . . .	0,56	—
— témoin — . . . . .	0,53	—

L'annélation ne manifeste son influence d'une façon sensible que dans la partie supérieure isolée du rameau; la partie inférieure, qui reste en continuité avec la plante, ne subit aucune diminution de caféine.

Les rameaux annelés laissés à l'air et à la lumière, pouvant assimiler, éprouvent, ainsi que nous venons de le voir, une diminution notable de la quantité d'alcaloïde, mais si l'on supprime l'assimilation il n'en est plus de même.

Dans des expériences plusieurs fois répétées à l'obscurité, CLAUTRIAU a trouvé :

Rameaux annelés à l'obscurité . . . . .	0,94	p. 100 de caféine.
— témoins . . . . .	0,87	— —

La caféine ne disparaît donc pas : la faible augmentation que l'obscurité semble provoquer provient de l'utilisation des réserves hydrocarbonées, qui a amené une légère diminution du poids brut des rameaux annelés.

CLAUTRIAU a également voulu se rendre compte de la variation de la caféine lorsqu'on empêche l'assimilation des rameaux annelés, tout en les laissant à la lumière, en les privant d'acide carbonique.

Au bout de douze jours (l'expérience ne peut durer plus longtemps, les plantes commençant alors à dépérir) les résultats furent les suivants :

Rameau annelé à la lumière sans CO <sup>2</sup> . . . . .	0,96	p. 100 de caféine.
— témoin — — . . . . .	0,63	— —

Cette expérience a été renouvelée et les résultats furent identiques.

Rameau annelé à la lumière sans CO <sup>2</sup> . . . . .	0,81	p. 100 de caféine.
— témoin — — . . . . .	0,59	— —

Le rameau annelé exposé à la lumière, mais ne pouvant assimiler, devient donc plus riche en caféine. *La production de cet alcaloïde n'est donc pas liée au phénomène de l'assimilation.* Sous l'influence de la lumière, l'activité cellulaire du rameau en expérience utilise une partie des matières albuminoïdes.

Le dosage de l'azote albuminoïdique par la méthode de KJELDAHL dans les deux rameaux, après enlèvement de la caféine par un traitement à l'alcool fort et chaud, vient confirmer cette hypothèse :

Azote albuminoïdique dans le rameau annelé . . .	2,34	p. 100
Azote — — — — — témoin . . .	2,49	—

Ces résultats sont d'ailleurs à rapprocher de ceux trouvés dans les expériences de développement à l'obscurité. Nous avons vu que l'on pouvait y supposer une augmentation de caféine. Dans les deux cas, on peut admettre que la plante, n'ayant pu assimiler, a vécu sur ses réserves; l'utilisation de ces réserves a amené une augmentation des déchets et, par suite, de l'alcaloïde.

D'autre part, CLAUTRIAU n'a jamais pu provoquer la réapparition de la caféine dans les feuilles qui n'en renfermaient plus. Alors que, dans le *Pangium*, on peut faire réapparaître l'acide cyanhydrique dans les vieilles feuilles, en supprimant la concurrence alimentaire entre les parties jeunes, actives, et les parties âgées de la plante, par l'ablation des jeunes feuilles, des essais analogues entrepris sur le *Coffea liberica* Hiern, dont les feuilles adultes ne contiennent pas d'alcaloïde, n'ont donné aucun résultat.

Les piqûres, les incisions dans des feuilles adultes de Caféier, faites dans le but d'y provoquer l'apparition de caféine, furent négatives. Des expériences analogues sur les plantes à glucosides cyanogénétiques font réapparaître l'acide cyanhydrique dans les organes lésés.

Il en fut de même des expériences entreprises en vue de provoquer l'augmentation de caféine en empêchant le développement des parties jeunes, c'est-à-dire en mettant obstacle à l'utilisation des matériaux plastiques résultant de l'assimilation.

C'est ainsi que des rameaux annelés, privés de la partie terminale et des bourgeons situés à l'aisselle des feuilles les plus proches du sommet, renferment les quantités de caféine suivantes :

Rameaux annelés étêtés. . . . .	0,55	p. 100 de caféine.
— témoins. . . . .	0,63	— — —

Ainsi donc, dans le rameau étêté, où l'utilisation des matériaux résultant de l'assimilation a été entravée et où, par conséquent, on aurait dû trouver une accumulation de ces matériaux, c'est une diminution que l'on constate dans la teneur en caféine.

La caféine n'augmente donc pas lorsqu'on enlève des jeunes feuilles, elle ne réapparaît pas dans les feuilles adultes privées d'alcaloïdes, elle ne s'accumule pas à la suite d'annélations, elle ne disparaît pas à l'obscurité.

CLAUTRIAU a également expérimenté sur le Thé et les résultats obtenus avec cette plante sont identiques à ceux trouvés chez les Caféiers. Mais, dans ces essais, la diminution est généralement plus forte que dans le *Coffea*. L'activité des rameaux du Thé est très grande et, à la suite de l'incision annulaire, il se manifeste rapidement un ralentissement de la croissance. Après trois semaines, le rameau annelé commence à devenir chlorotique, anémié; il s'est peu allongé, tandis que le rameau témoin a considérablement grandi.

Le dosage de la caféine sur des rameaux annelés et des rameaux témoins, prélevés de telle façon qu'ils aient le même nombre de feuilles, a donné :

Rameaux de *Thea sinensis* L. annelés le 20 décembre; prélèvement le 8 janvier :

Rameaux annelés. . . . .	0,86 p. 100 de caféine.
— non annelés. . . . .	1,37 — —

Rameaux de *Thea assamica* J. Mast. annelés le 20 décembre; prélèvement le 11 janvier :

Rameaux annelés. . . . .	0,44 p. 100
— non annelés. . . . .	0,62 —

Rameaux de *Thea sinensis* L. annelés au commencement de janvier; prélèvement le 20 février. Ces rameaux annelés, fortement lignifiés, étaient garnis de nombreux boutons floraux :

Rameaux annelés. . . . .	0,34 p. 100 de caféine.
— non annelés. . . . .	0,86 — —

L'annélation provoque donc une diminution très notable d'alcaloïde.

Cette diminution pourrait être le fait de l'utilisation de la caféine et de sa transformation en matière albuminoïde. Le dosage de l'azote total par la méthode de DUMAS donne les résultats suivants :

Rameaux annelés . . . . .	1,98 d'azote.
— non annelés . . . . .	2,68 —

Le dosage de l'azote albuminoïdique par le procédé KJELDAHL, après séparation de la caféine, indique également une forte diminution de cet azote. Ainsi donc, on ne peut imputer la diminution de la caféine à une transformation de celle-ci en matières albuminoïdes, puisque dans les rameaux annelés, il y a en même temps diminution de l'azote total et de l'azote albuminoïdique.

Les expériences d'annélation en milieu privé de CO<sup>2</sup> ont donné un

résultat analogue à celles faites sur le *Coffea*. On constate ici également une augmentation de caféine (1) :

Rameau annelé développé en milieu privé de CO <sup>2</sup> .	0,62 p. 100 de caféine.
— témoin	0,58 —

3° INFLUENCE DE LA NUTRITION AZOTÉE. — Avec le Thé, CLAUTRIAU a pu rechercher l'influence des sels azotés sur la teneur en caféine de la plante.

Il semble qu'en affamant d'azote des rameaux de Thé, on pourrait constater la disparition et par suite l'utilisation de la caféine. Pour cela, des rameaux étaient plongés dans des solutions nutritives avec ou sans azote.

Dans une première série d'expériences faites avec le *Thea sinensis* L. et le *Thea assamica* J. Mast., les rameaux plongeaient dans un liquide de SACHS avec ou sans nitrate de potassium, mis à la lumière, mais à l'abri des rayons directs du soleil. Une première série est analysée neuf jours après la mise en train de l'expérience; la seconde série, après quinze jours; le dosage de la caféine donne :

	AVEC NITRATE	SANS NITRATE
<i>Thea sinensis</i> L : Après neuf jours . . . . .	1,75 p. 100	1,63 p. 100
— Après quinze jours . . . . .	1,93 —	1,56 —
<i>Thea a-samica</i> J. Mast : Après neuf jours . . . . .	1,00 —	0,83 —
— Après quinze jours . . . . .	1,33 —	1,19 —

La proportion de caféine semble avoir augmenté dans les rameaux analysés après quinze jours; mais CLAUTRIAU fait remarquer que cette teneur plus forte est due à ce que les feuilles adultes étaient tombées et que, seule, l'extrémité a pu être soumise à l'analyse. Il ne faut donc tenir compte que des chiffres obtenus après neuf jours.

Les résultats montrent donc que la privation d'aliment n'occasionne qu'une faible diminution de la caféine et celle-ci est due à ce que l'assimilation des matériaux hydrocarbonés a seule pu être continuée, et non à un arrêt de la croissance. Il n'y a donc pas eu utilisation de la substance alcaloïdique.

Avec le nitrate d'ammoniaque, qui semble être l'aliment azoté qui convient le mieux au Thé, et après huit jours de contact avec une solution nutritive avec ou sans nitrate d'ammonium, on trouve :

Rameau dans la solution avec azote.	1,59 p. 100 de caféine.
— — sans azote.	1,35 —

1. Cette augmentation est faible parce que CLAUTRIAU avait dû choisir pour la commodité de l'expérience des rameaux inférieurs où la vitalité est moindre que dans les branches supérieures. Ce résultat n'aurait rien de probant, s'il ne concordait pas avec ceux obtenus dans les expériences sur le café.

Enfin, dans une troisième série d'expériences, dans laquelle, pour augmenter l'assimilation, les rameaux étaient exposés en pleine lumière, dans une caisse vitrée où se produisait un dégagement lent et continu de  $\text{CO}_2$ , au bout de six jours, on a trouvé :

Rameau dans la solution avec azote.	1,25	p. 100	de caféine.
— — — sans azote.	1,16	—	—
Rameau dans l'eau distillée.	1,29	—	—

CLAUTRIAU conclut que la quantité de caféine n'est pas directement influencée par l'absence ou la présence d'aliments azotés. « La faible diminution que l'on constate semble bien prouver que la caféine ne constitue pas une réserve azotée pour la plante et ne représente pas un stade transitoire de l'assimilation de l'azote dans sa transformation en matières albuminoïdes. Au contraire, elle semble plutôt provenir de la décomposition de ces matières albuminoïdes. »

Nous ajouterons que l'augmentation que l'on constate dans les expériences d'annélation en milieu privé de  $\text{CO}_2$  semble, en effet, plutôt correspondre à une utilisation des matériaux de réserve. La caféine que l'on trouverait en excès serait alors le déchet provenant de la transformation de ces substances. L'alcaloïde apparaîtrait alors bien plus comme le résultat de la croissance du rameau en dehors de toute assimilation chlorophyllienne, que comme le résultat de l'assimilation propre des feuilles.

### § 2. — *Migration dans la greffe.*

La greffe peut être considérée comme une association par juxtaposition de deux individus. On peut songer qu'entre le greffon et le portegreffe des échanges d'ordre nutritif se produiront. Ces échanges paraissent, *a priori*, plus spécialement probables quand les deux individus greffés sont voisins dans la classification; peu probables, au contraire, lorsqu'ils appartiendront à deux genres très éloignés. A ce point de vue, de fort intéressantes remarques ont été faites concernant les glucosides cyanogénétiques (GUIGNARD).

Aussi, peut-on supposer que l'étude des greffes chez les plantes à alcaloïdes pourra donner sur l'origine, sur la signification de ces substances, d'utiles renseignements. Par exemple, en greffant sur une plante non alcaloïdifique une plante renfermant des alcaloïdes, puis en faisant la greffe inverse, on pourra suivre le passage des bases du greffon dans le sujet, ou réciproquement.

Les premières recherches faites dans cette voie sont celles de J. C. B. MOENS (\*) sur les Quinquinas (1875). Par des greffes entre Cin-

1. J. C. B. MOENS : *Die Kinakultur in Asien*, 162, 1882.

*chona Calisaya* Wedd. et *C. succirubra* Pav., entre *C. Calisaya* Wedd. et *C. Pahudiana* How., il n'obtient aucun changement dans la composition des écorces.

Dans d'autres essais, il greffe *C. Ledgeriana* Wedd. (qui ne renferme pas de cinchonidine) sur *C. succirubra* Pav. (qui renferme à la fois de la quinine et de la cinchonidine). Il remarque une augmentation de la teneur en quinine dans la souche de *C. succirubra* et, dans le greffon de *C. Ledgeriana*, il caractérise et dose la cinchonidine. L'apparition de cet alcaloïde, après la greffe, dans une écorce qui n'en renferme pas naturellement, est un fait important, mais l'auteur doute de la valeur de ses expériences, supposant que peut-être la greffe a été prise, non sur un arbre de type pur, mais sur un hybride de *C. Ledgeriana* renfermant déjà de la cinchonidine.

VAN LEERSUM<sup>(1)</sup>, reprenant ces expériences, montra que l'on se trouvait réellement en présence d'une influence de la souche sur le greffon. Ainsi, la greffe produit ici deux phénomènes incontestables. C'est d'abord une variation quantitative : augmentation de la quinine dans la souche sous l'influence du greffon, augmentation d'autant plus grande que l'arbre mère du greffon renferme lui-même plus de quinine. De plus, une variation qualitative beaucoup plus frappante se manifeste : il apparaît dans le greffon un alcaloïde qui n'y existe pas naturellement et qui existe en quantités faibles dans la souche.

Voulant apporter plus de précision dans les résultats de ces essais, VAN LEERSUM montre que l'effet du greffage se fait sentir au voisinage du bourrelet ; il est beaucoup moins sensible à 25 centimètres et, à 50 centimètres de la cicatrice, on ne constate plus aucun changement.

D'autres expériences ont été faites sur les Solanées, chez lesquelles on rencontre des espèces ou des genres voisins, dont les uns sont alcaloïdifères et les autres non.

La première expérience sur ce sujet remonte à KLINGER ; elle a été signalée par STRASBURGER<sup>(2)</sup>. Dans le cas de *Datura Stramonium* L., greffé sur Pomme de terre, il a pu constater la présence d'atropine dans les tubercules. 800 grammes de tubercules renfermaient quelques milligrammes d'atropine, tandis que 600 grammes de tubercules témoins n'ont pu fournir qu'une trace d'alcaloïdes.

Plus tard, STRASBURGER<sup>(3)</sup> rappelle que l'essai d'identification avait

1. P. VAN LEERSUM : Sur l'action réciproque des souches de *Cinchona succirubra* Pav. et des *C. Ledgeriana* Wedd. qui y sont greffés au point de vue de la teneur en alcaloïde. *Natuurkundig Tijdschrift voor Nederlandsch Indie*, 59, 33-34, 1900.

2. STRASBURGER : Ueber Verwachsungen und deren Folgen. *Ber. d. Bot. Gesell.*, 3, p. xxxiv, 1885.

3. E. STRASBURGER : Zu dem Atropinnachweis in den Kartoffelknollen. *Ber. d. Bot. Gesell.*, 24, 599, 1906.

été fait par voie physiologique (dilatation de la pupille). Il n'est pas inutile de le faire remarquer.

L'expérience de KLINGER resta unique pendant une vingtaine d'années. En 1907, E. SCHMIDT et A. MEYER (1) reprirent cette expérience, mais sans succès. En greffant *Datura Stramonium* L. sur Pomme de terre, ils ne parvinrent pas à déceler, ni microchimiquement, ni physiologiquement, la moindre trace d'alcaloïde dans les tubercules; pourtant, dans une autre expérience de contrôle, ils pouvaient très bien isoler 2 milligrammes d'alcaloïde d'un kilogramme de Pomme de terre.

LEWIN ne put davantage confirmer les résultats annoncés par KLINGER et, comme E. SCHMIDT et MEYER, il conclut à une absence de migration du greffon vers les tiges souterraines du porte-greffe. Les analyses furent faites sur des échantillons qui avaient été remis par LINDEMUTH (2).

Les résultats sont un peu plus nets lorsqu'on greffe *Nicotiana Tabacum* L. riche en nicotine sur *Nicotiana affinis* Hort., dont la teneur en cette base ne dépasse pas 0,048 à 0,078 p. 100.

V. GRAFE et LINSBAUER ont montré que, dans le cas de greffe de *N. Tabacum* L. (var. *paniculatum* ou *auriculatum*) sur *N. affinis* Hort., il y avait augmentation notable de nicotine dans le *N. affinis* Hort. :

		NICOTINE DANS LE SUJET <i>N. affinis</i>	
		poids	p. 100
I.	$\frac{N. Tabacum\ paniculatum}{N. affinis}$ . . . . .	0,01134	soit 1,67 p. 100
II.	$\frac{N. Tabacum\ auriculatum}{N. affinis}$ . . . . .	0,00567	soit 0,84 —
III.	$\frac{N. Tabacum}{N. affinis}$ . . . . .	0,05184	soit 3,56 —
IV.	$\frac{N. affinis}{N. Tabacum}$ . . . . .	0,03888	soit 4,01 —

Dans le cas inverse, le greffon *N. affinis* renfermait aussi une plus forte proportion de nicotine.

	$\frac{N. affinis}{N. Tabacum\ auriculatum}$ . . . . .	0,0243	soit 0,98 —
--	--------------------------------------------------------	--------	-------------

La nicotine passe donc de l'espèce riche dans l'espèce plus pauvre. Est-ce là le résultat d'un simple transport, ou y a-t-il un phénomène

1. E. SCHMIDT et A. MEYER : Die Wanderung der Alkaloide aus dem Propfreise in der Unterlage. *Arch. der Pharm.*, 245, 329-336, 1907.

2. H. LINDEMUTH : Über angebliches Vorhandensein von Atropin in Kartoffel Knollen in folge von Transplantation und über die Grenzen der Werwachsung nach dem Verwandtschaftsgrade. *Ber. d. Bot. Gesell.*, 24, 428-435, 1906.

plus complexe? N'y aurait-il pas stimulation de la fonction alcaloïdogène dans le sujet peu apte à la production de ce composé?

Les auteurs (1) ont essayé de résoudre ce problème. Ils ont greffé *N. Tabacum* et, avant que le sujet ait donné des rejetons, ils ont coupé le greffon. Des rejetons nouveaux se sont alors formés et ont grandi : on y a dosé la nicotine. On a trouvé que les rejetons ainsi obtenus renfermaient 0,33 p. 100 de nicotine. Cette expérience semblerait prouver que le greffon riche en nicotine favorise la formation de cet alcaloïde dans le sujet. C'est une hypothèse que les auteurs font sous toutes réserves, car l'on pourrait tout aussi bien dire que le greffon a envoyé d'abord de l'alcaloïde dans le sujet, qui, à son tour, l'a expédié dans les rejetons.

La question de la migration des alcaloïdes de Solanées par greffage a surtout été étudiée par LAURENT, dans les greffes simples et mixtes de Belladone sur Tomate et inversement.

Dans des expériences faites en 1906, de greffe ordinaire de Belladone sur Tomate, on trouve pour 100 grammes de substances sèches :

FEUILLES		RACINES (2)
Belladone témoin	Belladone greffée	Tomate sujet
0,322	0,312	0,008
0,314	0,224	0,006
0,319	0,200	0,008
0,298	0,300	0,004

Il y a donc eu très nettement passage d'alcaloïde. Ce dernier a été caractérisé au moyen des essais chimiques (iodure de potassium iodé, réactif de VALSER, réaction de VITALI) et par la réaction physiologique chez l'homme et chez le chien. Comparativement, la même recherche faite sur des tomates témoins n'a donné aucun résultat. Il n'y a pas eu de précipité avec le réactif de VALSER, une simple coloration rouge avec l'iodure de potassium iodé, sans précipité, et pas d'action mydriatique.

On peut constater que la quantité d'alcaloïde dans la Belladone greffée varie dans de fortes proportions, tandis que, dans le témoin, elle est constante. Cela provient de ce que les différentes greffes sont de vigueur différente suivant l'état du bourrelet. Celles dont le bourrelet est parfait ont les greffons les plus développés et, par suite, sont plus riches en alcaloïdes. On voit ainsi que la *nutrition générale* influe sur la forma-

1. V. GRAFE et LINSBAUER : *Über die wechselseitige Beeinflussung von Nicotiana Tabacum L. und Nicotiana affinis Hort., bei der Propfung.* Ber. d. d. Bot. Gesell., 24, 366, 1906.

2. La greffe se fait assez bas et on a dû doser tout ce qui se trouve au-dessous du collet.

tion des alcaloïdes : suivant qu'elle s'effectue plus ou moins bien, la teneur en alcaloïde varie dans une assez grande mesure.

Dans les expériences de greffes mixtes (\*) de Belladone sur Tomate porte-greffe, on trouve le même résultat.

BELLADONE témoin	BELLADONE greffée sur tomate	TOMATE sur belladone Belladone sujet	TOMATE PORTE-GREFFE	
			Tige	Racine
1. 0,322	0,198	0,314	0,008	0,002
2. 0,314	0,245	0,327	0,009	0,003
3. 0,319	0,275	0,336	0,012	0,004
4. 0,298	0,221	0,306	»	»
5. 0,324	0,169	0,293	»	»

On voit donc que dans la Belladone témoin et la Belladone sur laquelle on a greffé la Tomate on a, sensiblement, la même teneur en alcaloïde, qui ne varie pas. Dans la Belladone greffée, nous retrouvons les mêmes variations qui sont dues à l'inégalité de la nutrition. Il semblerait, d'après les expériences 1, 4, 5, que la quantité d'alcaloïde dans le greffon soit moins élevée dans la greffe mixte que dans la greffe simple. LAURENT (\*) explique ce fait de la façon suivante : le greffon fabrique toujours la même quantité d'alcaloïde. Dans la greffe ordinaire, le sujet, dont les dimensions sont restreintes, n'exerce qu'un appel assez faible, dû presque uniquement à la racine; dans la greffe mixte, la racine prend un plus grand développement; le rameau conservé sur le sujet exerce lui-même un appel pressant. L'atropine est donc attirée en plus grande quantité, et si le greffon n'en fabrique pas davantage, il se trouve ainsi moins riche. L'alcaloïde se trouve toujours en plus grande quantité au voisinage du bourrelet.

Dans le cas de greffe de Tomate sur Belladone (greffe simple ou greffe mixte), alors que, dans le sujet porte-greffe, la quantité d'alcaloïde était à peu près constante, on n'a jamais trouvé d'alcaloïde dans la Tomate greffon. Autrement dit, il n'y a pas appel d'alcaloïde vers les parties en

1. La greffe mixte est un procédé qui consiste à laisser à demeure sur le sujet des pousses feuillées qui assurent en partie sa nutrition et que l'on pince pour ne pas compromettre la vie du greffon. Ce procédé permet de faire pénétrer plus facilement certains produits d'une plante dans l'autre et c'est là-dessus que DANIEL s'est basé pour tenter d'obtenir par la greffe des variations plus accentuées.

2. CH. LAURENT : Sur la variation de la quantité d'atropine et de la recherche de cet alcaloïde dans les greffes de Belladone et de Tomate. *Rev. bretonne de Bot.* Rennes. N° 2, 71-77, 1906; Étude sur les modifications chimiques que peut amener la greffe dans la constitution des plantes. *Th. Doct. Sc.*, Paris, p. 95-103, 1908.

formation, tandis que, dans le cas contraire (Belladone sur Tomate), il y a transport de l'atropine vers la partie souterraine; toutefois on ne peut dire s'il est, dans ce cas, un produit d'excrétion ou une matière de réserve.

Ces expériences ont été reprises et confirmées en partie tout dernièrement par JAVILLIER<sup>(1)</sup>. Ses essais ont porté sur des greffes simples de Belladone sur Pomme de terre, et sur des greffes mixtes de Tabac sur Pomme de terre, de Belladone sur Tomate et inversement.

Dans la greffe de Belladone sur Pomme de terre, JAVILLIER n'a pu caractériser l'alcaloïde dans 840 grammes de tubercules, même par l'essai physiologique.

Dans la greffe mixte de Tabac sur Pomme de terre, il n'y a également aucun transport d'alcaloïde soit dans la tige, soit dans la racine.

Dans la greffe mixte de Belladone sur Tomate, la recherche de l'atropine a été faite dans les fruits et, la réaction mydriatique, faible dans une expérience, a été assez nette dans un second cas. Quant à la réaction de VITALI, elle est masquée par un produit qui précipite par le silicotungstate et donne, après isolement, avec  $AzO^3H$  et la potasse caustique, une coloration rouge qui masque plus ou moins la réaction cherchée.

Enfin, dans la greffe mixte de Tomate sur Belladone, les fruits de Tomate donnent des résultats positifs à l'examen chimique et à l'examen physiologique; les tiges et les feuilles donnent, au contraire, des résultats négatifs.

Ainsi donc, ces recherches montrent, d'après l'auteur, un passage très net de l'alcaloïde de la Belladone sujet ou de la Belladone greffon à travers le bourrelet, mais *cette migration d'alcaloïde est quantitativement très faible, de quelques milligrammes dans les cas les plus favorables*. Ces expériences complètent celles de LAURENT qui n'avait pas trouvé d'alcaloïdes dans le cas de  $\frac{\text{Tomate}}{\text{Belladone}}$ , alors que c'est l'expérience la plus positive de JAVILLIER.

A. MEYER et E. SCHMIDT<sup>(2)</sup> sont tout dernièrement revenus sur leur première expérience. Cette fois, ils ont pu prouver, d'une façon certaine, que les alcaloïdes du Datura et du Tabac passent à travers le bourrelet, bien que les alcaloïdes soient, dit-on, des substances *aplastiques*.

En général, la migration ne s'effectue que très lentement et c'est surtout par les parenchymes que se produit le transport, car les tubes criblés ne semblent pas contenir d'alcaloïde.

1. JAVILLIER : Sur la migration des alcaloïdes dans les greffes de Solanées sur Solanées. *Ann. de l'Inst. Past.*, 1910, 24, 569-576, 1910.

2. A. MEYER et E. SCHMIDT : Ueber die gegenseit. Beeinflussung d. Symbionten heteroplastisch. Transplantationen. *Flora*. 100, 317. 1909-1910.

Dans la greffe  $\frac{\textit{Datura Stramonium L.}}{\textit{Solanum Lycopersicum L.}}$  la migration des alcaloïdes est assez appréciable ; elle est moins nette dans le cas  $\frac{\textit{Datura Stramonium L.}}{\textit{Solanum tuberosum L.}}$ .

Dans le cas  $\frac{\textit{Nicotiana Tabacum L.}}{\textit{N. affinis Hort.}}$  le passage a été énorme et la plante porte-greffe renferme beaucoup plus d'alcaloïde, parfois 10 fois plus que le greffon.

Les alcaloïdes du *Datura* et du *Tabac*, qui émigrent très lentement dans le sujet, se concentrent au sommet, au voisinage de la greffe : la teneur en alcaloïde dans les autres parties est d'autant plus faible que les cellules sont plus éloignées du bourrelet. C'est ainsi que, dans le cas de la Pomme de terre sujet, même si les cellules voisines de la greffe sont riches en alcaloïde, les tubercules n'en contiennent que des traces ou pas du tout.

De ces recherches, nombreuses et souvent fort bien conduites, pourrions-nous tirer quelques renseignements intéressants d'ordre biologique ?

Il est évident que, lorsque la greffe est bien établie, des échanges nutritifs, qu'il est difficile de suivre, se font entre sujet et greffon. Il n'est pas facile, par exemple, d'établir par des analyses quantitatives les échanges de glucose ou d'amidon. Pour les alcaloïdes, la facilité relative de leur dosage permettrait de prouver la réalité de ces échanges. Mais on a vu que le transport n'intéresse que de bien faibles quantités de substances et que, souvent, l'influence de la greffe ne se fait sentir qu'au voisinage du bourrelet.

On ne peut donc conclure que ces bases se conduisent, dans la greffe, comme des matériaux nutritifs. Malgré son intérêt, cette nouvelle série d'expériences ne nous permet donc pas de déterminer encore le rôle des alcaloïdes.

### 3. — *Migration pendant la Germination.*

Les variations des alcaloïdes, que nous venons d'étudier au cours de la végétation des plantes adultes ou greffées, nous renseignent bien peu sur le rôle biologique de ces composés.

Leur migration pendant la germination de la graine et la formation de la jeune plante nous donnera peut-être plus de renseignements.

A vrai dire, c'est la méthode qui a été employée dès le début des recherches sur l'utilisation des alcaloïdes.

HECKEL (<sup>1</sup>), le premier, a étudié ce que deviennent les alcaloïdes pendant la germination.

Ses recherches ont porté sur un alcaloïde du groupe de la purine, la caféine, et sur des alcaloïdes à noyau pyridique ou pyrrolique : strychnine, brucine, daturine, ésérine.

Des semences de *Sterculia acuminata* Beauv., mises à germer en serre chaude, donnent des pieds bien développés sur lesquels les cotylédons ont pu être enlevés à différentes époques. La chose est assez facile, car les cotylédons, après avoir verdi et triplé de volume, se conservent intacts et attenants à la jeune tige jusqu'à la fin de la troisième année qui suit la germination.

Les graines de Kola mises à germer contenaient 2 gr. 37 p. 100 de caféine; après un an, elles n'en renfermaient plus que 1,072 p. 100; après deux ans 0,70 et après trois ans 0,21 p. 100.

En même temps que disparaît la caféine, apparaissent la chlorophylle et du nitrate de potasse qui n'existe jamais auparavant dans les cotylédons.

Les graines de *Strychnos Nux-vomica* L., de *Datura Stramonium* L., se comportent de même; au bout d'un temps très court, deux à cinq mois, tous les alcaloïdes contenus dans la graine ont disparu. D'après HECKEL, ils se seraient transformés en substances assimilables sous l'influence de l'embryon, car les mêmes graines, privées au préalable de leur germe et enfouies dans la terre humide, conservent longtemps leurs alcaloïdes.

Dans le *Physostigma venenosum* Balf., l'ésérine est transformée, pendant la germination, par les cotylédons eux-mêmes, car l'extrait fait avec les cotylédons ne possède plus les propriétés physiologiques si caractéristiques de l'ésérine.

Quelques années plus tard, GAUCHER (<sup>2</sup>), par des recherches microchimiques sur la germination du *Coffea arabica* L., confirme les précédentes conclusions. La caféine existe en abondance dans l'embryon et l'albumen. On ne la retrouve plus dans la jeune plantule pendant la première période de croissance. Elle disparaît en même temps de la partie désormais inutile de l'albumen.

BARTH (<sup>3</sup>) partage l'avis d'HECKEL; il a expérimenté avec des graines d'*Aconitum*, de *Conium*, de *Datura*, mises à germer en serre sur des vases poreux placés dans l'eau. Seules, les graines de *Datura* lui ont donné de bons résultats, la Ciguë ne lui a donné que quelques plantules, l'*Aconit* n'a pas germé.

Il constate alors que, lorsque la racicule du *Datura* commence à

1. ED. HECKEL: Sur l'utilisation et la transformation de quelques alcaloïdes dans la graine pendant la germination. *C. R. Ac. Sc.*, 410, 88-90, 1890.

2. L. GAUCHER: De la caféine et de l'acide cafétannique dans le Caféier (Recherches microchimiques), *Th. Pharm.*, Montpellier 37-38, 1895.

3. BARTH: Studien über den mikrochemischen Nachweis von Alkaloiden, *loc. cit.*, 6.

poindre, les réactions de l'alcaloïde sont encore très nettes dans la graine. Dès que la plantule a atteint 1 centimètre de longueur, l'intensité de la réaction diminue considérablement et, si l'on fait alors des dosages par le procédé KELLER, on constate quantitativement cette perte d'alcaloïde. Les semences non germées renfermaient 0,06 p. 100 d'alcaloïdes. Les semences chez lesquelles 2/3 des graines avaient germé renfermaient 0,012 p. 100. Les semences chez lesquelles toutes les graines avaient germé renfermaient 0,004 p. 100. Dans le *Conium*, les dosages n'ont pu être faits, mais la disparition progressive de la conicine a été constatée microchimiquement.

Nous allons voir que les expériences de BARTH sont exactes, mais que les conclusions qu'il en tire ne sont pas très justes. L'alcaloïde a bien disparu, mais rien ne prouve qu'il ait été utilisé par la plante pour la germination, et nous verrons comment FELDHAUS et CLAUTRIAU prouvent que la plus grande partie passe dans l'eau qui baigne les graines. D'ailleurs, l'expérience même de l'auteur prouve cet entraînement d'alcaloïde. Dans la seconde expérience, puisqu'il y a un tiers de graines qui est resté intact, s'il n'y avait pas de dissolution de principe actif, on aurait dû trouver le tiers de la quantité primitive, soit 0,020, plus les deux tiers de la quantité restante dans les graines ayant toutes germé. Comme on ne trouve que 0,012 p. 100, il faut donc forcément qu'il y ait eu perte par dissolution dans l'eau.

Les expériences d'HECKEL ont été reprises par CLAUTRIAU, TUNMANN, FELDHAUS, et leurs résultats sont diamétralement opposés à ceux du premier auteur.

CLAUTRIAU a mis à germer entre des feuilles de papier à filtrer, tenues humides et placées sur des claies, des graines mûres de *Coffea arabica* L. Au bout d'un mois, la jeune racine commence à sortir d'un grand nombre de graines. On enlève ces graines et on les place sur de petites claies en bois de façon que la jeune racine, en s'allongeant, vienne plonger dans de l'eau distillée contenue dans un cristalliseur disposé au-dessous. Le tout est laissé à l'obscurité. Lorsque la racine a atteint une longueur de plus de 10 centimètres et que l'hypocotyle s'est allongé, mais avant l'étalement complet des cotylédons, on soumet les plantules absolument blanches à l'analyse. On trouve :

Graines mûres avant la germination.	1,42	p. 100 de caféine.
Plantules issues des graines. . . . .	1,75	— —

Ces chiffres sembleraient montrer que la caféine a augmenté pendant la germination. En réalité, il y a bien eu une augmentation, mais il est nécessaire d'entrer dans quelques détails pour rendre évident ce fait important.

L'analyse nous apprend que 100 grammes de graines renferment

1,42 de caféine, et 100 grammes de plantules 1,75; mais, d'autre part, les plantules ont perdu 18 p. 100 du poids initial, c'est-à-dire que 100 grammes de graines donnent 82 grammes de plantules qui contiennent 1,435 de caféine; par suite, toute la caféine des graines est restée intacte et n'a subi aucune modification pendant la germination. Ceci n'est pas tout à fait exact. L'analyse est faite sur un mélange de graines, mais 15 p. 100 de ces graines ne germent pas et CLAUTRIAU a pu constater que les graines ainsi stériles étaient excessivement riches en caféine et en contenaient 2,82 p. 100. Le chiffre de 1,42 p. 100 de caféine dans les graines ne peut donc se rapporter qu'au mélange des graines fertiles et stériles; il s'ensuit donc que le pourcentage en caféine des graines fertiles sera inférieur à 1,42 p. 100. D'après les calculs de CLAUTRIAU, il devrait être 1,17 à 1,20. On voit donc ainsi qu'au lieu de constater une diminution d'alcaloïde pendant la germination, comme dans les expériences d'HECKEL, c'est une augmentation que l'on observe.

Une autre remarque de CLAUTRIAU à propos de ces germinations est également intéressante. Il a constaté que les graines stériles laissées en contact trois mois avec le papier humide avaient perdu de la caféine et ne titraient plus que 1,70 p. 100 au lieu de 2,82 p. 100. Ceci nous montre, dans certains cas, une partie de l'alcaloïde peut disparaître des graines placées dans le sol ou en contact avec des substances humides, sans que pour cela il ait été utilisé.

Ces germinations étaient faites à l'obscurité et l'on pouvait faire une objection à cette manière d'opérer. On sait que l'asparagine s'accumule dans les végétaux en l'absence de lumière parce qu'elle ne peut être utilisée à cause du manque d'hydrates de carbone (PFEFFER). En est-il de même pour la caféine? CLAUTRIAU a donc refait des germinations de *Coffea arabica* L. à l'obscurité, et lorsque les plantules furent suffisamment développées, mais toujours avant que l'étalement des cotylédons ait eu lieu, il arracha une partie de ces plantes; l'autre partie fut laissée à découvert en pleine lumière, jusqu'à ce que les cotylédons, bien étalés, aient acquis un développement normal et une teinte vert foncé.

Les analyses des plantules aux deux états de développement ont donné les résultats suivants :

Plantules non éclairées, avant l'étalement des cotylédons . . . . .	1,76 p. 100 de caféine,
Plantules à la lumière, avec cotylédons étalés et ayant pu assimiler . . . . .	1,46 — —

La diminution de caféine que l'on constate n'est qu'apparente : elle est due à l'augmentation de poids des plantules par suite de l'assimilation. C'est ainsi que, si l'on prend le poids sec par 100 plantules, on trouve que :

100 plantules à l'obscurité pèsent 17 gr. 2 et renferment 0,302 de caféine.

100 plantules à la lumière pèsent 26 gr. et renferment 0,381 de caféine.

L'assimilation n'a donc pas provoqué la diminution de la quantité totale de caféine, elle a plutôt augmenté les proportions de cet alcaloïde.

*La caféine n'est donc pas utilisée pendant la germination pour le développement de la plantule.*

CLAUTRIAU a répété ses expériences sur le Thé. Les graines de Thé ne renferment pas de caféine; celle-ci est exclusivement localisée dans le péricarpe.

Lorsqu'on fait germer ces graines soit à la lumière, soit à l'obscurité, et qu'on arrache les plantules lorsqu'elles ont atteint 10 centimètres de haut pour y doser séparément la caféine dans les cotylédons et les plantules, on trouve les résultats suivants :

Plantules à la lumière. . . . .	0,62 p. 100 de caféine.	
Cotylédons . . . . .	0,013 — —	très impure.
Plantules à l'obscurité. . . . .	0,77 p. 100	
Cotylédons. . . . .	traces.	

La caféine qui n'existe pas dans la graine apparaît dans la jeune plante en quantité considérable. Les cotylédons n'en renferment que des traces provenant très probablement des tissus qui les rattachent à la jeune plante. On ne peut donc admettre ici que la caféine est nécessaire à la germination.

On pourrait supposer que la caféine formée pendant la germination s'accumule dans la jeune plante pour être utilisée ultérieurement, et que cette utilisation peut passer inaperçue. L'expérience suivante de CLAUTRIAU répond à cette critique. Des graines sont mises à germer à l'obscurité; lorsque les plantules atteignent une hauteur de 10 à 15 centimètres, une partie est arrachée, et l'autre partie exposée à la lumière pendant deux semaines. Les jeunes plantes ont rapidement développé leurs premières feuilles et en ont même formé de nouvelles.

Il y a donc eu assimilation.

L'analyse des plantes avant et après action de la lumière a donné les chiffres suivants :

Plantules étiolées . . . . .	1,15 p. 100 de caféine.
Plantules étiolées puis exposées à la lumière . . . . .	1,00 — —

Ici, comme pour le Café, la faible diminution de la proportion de caféine dans les plantes vertes est due à l'augmentation de poids de la

matière sèche de chaque pied. En réalité, la quantité totale d'alcaloïde que contient chaque plantule ne diminue pas; elle va, au contraire, en augmentant.

SUZUKI (1) est arrivé à des conclusions semblables (2). Il reconnaît que la graine de Thé ne renferme pas de caféine, et que la lumière ne paraît avoir aucune influence directe sur la formation de cette substance. Au cours de la germination, la caféine prend naissance à la suite du métabolisme des substances de réserve; elle ne dériverait pas d'une simple destruction des matières protéiques, parce que ces dernières, traitées *in vitro* par l'acide chlorhydrique concentré additionné de chlorure d'étain, ne fournissent pas ce dérivé purique.

La caféine ne semble donc pas être une substance azotée nécessaire à la nutrition de la plante; en tout cas, elle n'a aucune utilité lors de la germination.

Nous avons dit pourquoi le choix de cet alcaloïde pour de telles expériences n'est pas heureux. D'autres alcaloïdes, de constitution différente, se comporteront-ils de même?

Il en est ainsi des alcaloïdes de *Datura*, comme l'a également montré CLAUTRIAU (3). Nous avons vu que, dans les graines de Solanacées mydriatiques, l'alcaloïde existait uniquement dans une couche sous-tégumentaire située entre l'albumen et le tégument proprement dit. On peut enlever très facilement le tégument des graines de *Datura Stramonium* L. et, comme la couche à alcaloïde y adhère, on enlève ce dernier en grande partie; ce qui reste accolé à l'albumen est facilement débarrassé de tout ce principe par des lavages à l'eau distillée, jusqu'à ce que l'eau de lavage ne se trouble plus par les réactifs des alcaloïdes. D'ailleurs, les graines, broyées et épuisées à l'alcool absolu acidulé, montrent qu'elles ont été complètement privées de *daturine*. Si l'on met des graines semblablement pelées soit dans de la terre, soit sur une étamine humide, elles germent rapidement, *plus rapidement* même que les graines normales, et donnent des plantules qui ne diffèrent en rien des plantules normales de *Datura*. D'autre part, l'examen microchimique de ces plantules, issues de graines pelées permet d'y déceler la présence d'alcaloïde.

1. U. SUZUKI: Contribution to the physiological knowledge of the tea plants. *Bull. of the College of Agriculture Tokio*, 4, 260-266, 1901.

2. Parmi les résultats concordant avec ceux de CLAUTRIAU, citons: la présence de traces de caféine dans les cotylédons au moment de la germination de la graine; l'action négative des engrais azotés (nitrate de soude) sur l'augmentation de l'alcaloïde. Cette dernière conclusion est également confirmée par des analyses de VAN ROMBURGH sur des plantes poussant dans un sol soigneusement fumé, et d'autres, cultivées dans un sol extrêmement pauvre.

3. G. CLAUTRIAU: Localisation et signification des alcaloïdes dans quelques graines. *Ann. Soc. Belge de Microscopie*, 18, 35-54, 1894.

L'iodure de potassium iodé, le réactif de VALSER, l'acide phosphomolybdique donnent des précipités abondants au point végétatif et autour du faisceau central, et ce précipité ne se produit pas lorsque les coupes ont été préalablement traitées par l'alcool tartrique.

La même démonstration peut se faire avec le *Conium maculatum* L.; mais, dans ce cas, l'expérience est moins probante, car l'alcaloïde s'enlève plus difficilement. On laisse les graines dans l'eau, et l'on détache alors le tégument; avec l'ongle, on gratte la surface de la graine et on la soumet à un lavage répété à l'eau distillée, jusqu'à ce qu'on n'obtienne plus la réaction des alcaloïdes. La germination des graines ainsi privées d'alcaloïdes s'effectue normalement et donne des plantes identiques à celles provenant de graines intactes.

Ainsi donc, l'alcaloïde n'est pas nécessaire à la germination; au contraire, il y a production de ce principe lors du développement de l'embryon. Ce fait, qui avait déjà été constaté pour les graines dépourvues d'alcaloïde, telles que le Pavot et le Tabac, est ici très significatif. La daturine, la conicine, ne peuvent être envisagées que comme des substances de déchet.

Les expériences de CLAUTRIAU sont donc en complète contradiction avec celles d'HECKEL, mais comment alors expliquer que ce dernier auteur ait constaté la disparition totale des alcaloïdes dans des graines de *Datura* mises à germer (4)? Il faut admettre, avec FELDHAUS, qu'il y a passage de l'alcaloïde dans le sol humide dans lequel les graines ont germé. L'auteur a laissé des semences intactes en contact pendant vingt-quatre heures avec de l'eau distillée. Les semences titraient primitivement 0,42 p. 100 d'alcaloïdes. A la fin de l'expérience, elles ne contenaient plus que 0,25 p. 100 et la solution aqueuse contenait une quantité d'alcaloïde qui, rapportée au poids des graines, était de 0,22 p. 100.

De même, pendant la germination du *Datura*, FELDHAUS (5) n'a pu constater une diminution d'alcaloïde. Il a fait des dosages dans des plantules développées à la lumière et à l'obscurité, et y a trouvé le même titre alcaloïdique, supérieur à celui de la semence ayant servi aux essais :

Dans la semence . . . . .	0,48 p. 100
Dans les plantules cultivées à la lumière . . . . .	0,67 —
Dans les plantules cultivées à l'obscurité . . . . .	0,66 —

CLAUTRIAU (6) a pu de même constater que des graines de Café, lais-

1. CLAUTRIAU : *Loc. cit.*, 51, met en doute l'exactitude du résultat obtenu par HECKEL; puisque, dit-il, dès que la graine germe il y a production d'alcaloïde, HECKEL aurait dû trouver ce dernier dans les graines en germination.

2. FELDHAUS : *Quantitative Untersuchung über die Verteilung des Alkaloïdes in den Organen von Datura Stramonium L. Arch. d. Pharm.*, 243, 328-348, 1905; *Dissert.*, Marburg, 1903.

3. CLAUTRIAU : *Nature et signification. Loc. cit.*, 97.

sées deux mois entre des feuilles de papier buvard humide, avaient perdu plus du tiers de leur caféine.

TUNMANN (1) a fait une constatation analogue sur les graines de *Strychnos Nux-vomica* L. Ces semences, mises dans des pots, sous une couche de terre de 5 centimètres de hauteur, ont montré une diminution progressive de l'alcaloïde :

Au début de l'expérience, le titre alcaloïdique était de	2,79	p. 100
Au bout d'un mois,	—	de 2,10 —
Au bout de trois mois	—	de 1,88 —
Au bout de quatre mois	—	de 1,85 —

Les semences étaient, au bout de ce temps, fortement gonflées et avaient atteint quatre fois leur grosseur initiale.

TUNMANN n'a pu retrouver l'alcaloïde disparu dans l'eau de lavage de la terre; probablement, dit-il, que la terre retient énergiquement l'alcaloïde. Ceci n'aurait rien d'étonnant, puisque nous savons qu'OTTO a montré que l'alcaloïde était détruit peu à peu dans le sol.

Les semences de Coca avec lesquelles l'auteur a opéré cèdent aussi très rapidement leurs alcaloïdes à l'eau de germination.

TUNMANN, d'accord avec CLAUTRIAU, croit que les alcaloïdes ne jouent aucun rôle nutritif lors de la germination des graines. Il a pris de jeunes plantules de *Strychnos* dont les cotylédons n'ont résorbé qu'une partie de l'albumen. Il enlève alors ce dernier et constate que les plantules continuent à se développer normalement. Il démontre que, s'il y a utilisation des alcaloïdes, ce n'est que dans de très faibles proportions.

Il prend pour cela dix semences qui renferment 0,556 d'alcaloïdes, il les met à germer et y dose les alcaloïdes qui ont disparu au moment où les cotylédons commencent à verdier et rejettent les téguments auxquels adhère encore un reste d'albumen non utilisé.

Il trouve :

Alcaloïde rejeté avec les téguments . . . . .	0,196
Alcaloïde dissous par l'eau . . . . .	0,105
Soit un total de . . . . .	0,301

Il a donc disparu 0,255 d'alcaloïde; c'est déjà une preuve que plus de la moitié n'a pas été utilisée. D'autre part, les cotylédons sont recouverts, même après le départ des téguments, d'une substance mucilagineuse d'une amertume extrême et qui renferme, par conséquent, des alcaloïdes. La quantité qui aurait été utilisée pendant la germination serait donc bien faible.

1. O. TUNMANN : Ueber die Alkaloïde in *Strychnos Nux-vomica* L. während der Keimung. *Arch. d. Pharm.*, 248, 644-657, 1910.

On voit donc, par l'exposé de tous ces résultats, que les premières conclusions d'HECKEL sur la migration des alcaloïdes dans les graines ne sont nullement confirmées. Si le choix des plantes à caféine n'est pas très heureux pour ce genre de recherches, du moins les expériences de CLAUTRIAU sur le *Datura* semblent-elles ne laisser aucun doute sur l'inutilité des alcaloïdes pendant la germination; elles montrent, au contraire, que ces substances peuvent se former, à partir des matériaux de réserve de la graine, en dehors de toute assimilation chlorophyllienne.

## ROLE DES ALCALOÏDES

Pour terminer, nous devons nous demander si l'alcaloïde rend un service à la plante, et de quelle sorte? Trois opinions très distinctes ont été émises à ce sujet.

Les uns font de l'alcaloïde une substance de *protection* contre les animaux : à leur dire, ce serait un moyen de défense efficace qui suffirait pour éloigner les gros herbivores, comme le cheval, l'âne, le lapin, les insectes et mollusques de toutes sortes. D'autres attribuent à ces substances un rôle *nutritif* tout particulier, dû à la présence d'azote dans leur molécule; d'autres, enfin, ne voient dans les alcaloïdes que des *matériaux de déchet*, inutilisables pour la plante, et qui peuvent parfois servir, mais accessoirement, de moyen de défense.

Nous examinerons successivement ces différentes hypothèses.

I. — *L'Alcaloïde, substance de protection.*

C'est ERRERA (1) qui, à la suite de ses premières recherches de localisation, attribua aux alcaloïdes, aux glucosides, aux substances amères, un rôle dans la protection des végétaux. Le savant belge n'avait pas oublié de faire ressortir que beaucoup de plantes, malgré leurs substances amères, ou vénéneuses, restaient quand même exposées à la voracité des animaux. Il avait dressé une liste des plantes dédaignées, évitées ou recherchées, et encourageait les botanistes à faire des remarques du même genre en vue d'une généralisation appliquée à la flore belge. Nous reproduisons intentionnellement la liste des plantes observées par l'auteur, afin de bien montrer qu'ERRERA n'avait pas voulu attribuer à son hypothèse une valeur absolue. Nous répondrons par là à certaines critiques qui lui ont été adressées en montrant qu'ERRERA concluait lui-même à une *efficacité défensive limitée*.

1. L. ERRERA : Un ordre de recherches trop négligé. L'efficacité des structures défensives des plantes. *Bull. Soc. roy. de Bot. de Belgique*, 25, 86-104, 1886.

## PLANTES RENFERMANT UN PRINCIPE AMER :

Dédaignées : *Linum catharticum* L., *Erythræa Centaurium* Pers., *Scrophularia*, *Gratiola officinalis* L., *Linaria vulgaris* Mill., *Vaccinium Vitis-Idæa* L., *Arnica montana* L., *Lactuca virosa* L.

Évitées : *Anemone nemorosa* L., *A. Pulsatilla* L., *Ranunculus Flammula* L., *R. acris* L., *R. bulbosus* L., *R. sceleratus* L., *Cicuta virosa* L., *Lycopus europæus* L., *Centaurea Cyanus* L., *Eupatorium cannabinum* L.

Recherchées : *Melilotus officinalis* Lam., *Geum urbanum* L., *Ilex aquifolium* L. (jeune), *Ligustrum vulgare* L., *Asperula odorata* L., *Artemisia Absinthium* L., *Taraxacum officinale* Wigg., *Lactuca sativa* L., *Humulus Lupulus* L.

## PLANTES RENFERMANT UN GLUCOSIDE :

Dédaignées : *Helleborus scetidus* L., *H. viridis* L., *Saponaria officinalis* L., *Lychnis Flos-cuculi* L., *Vincetoxicum officinale* Moench, *Solanum Dulcamara* L., *S. nigrum* L., *Digitalis purpurea* L., *Globularia vulgaris* L., *Paris quadrifolia* L., *Acorus Calamus* L.

Évitées : *Dianthus*, *Sedum acre* L., *Saxifraga*, *Menyanthes trifoliata* L., *Convolvulus sepium* L., *Solanum tuberosum* L., *Rhinanthus major* Ehrh., *Cichorium Intybus* L.

Recherchées : *Silene*, *Isatis tinctoria* L., *Rhamnus*, *Erica*, *Calluna vulgaris* Salish., *Fraxinus excelsior* L., *Convolvulus arvensis* L., *Lonicera Xylosteum* L., *Achillea Millefolium* L., *Salix*, *Populus*, *Convallaria maialis* L.

## PLANTES RENFERMANT UN ALCALOÏDE :

Dédaignées : *Caltha palustris* L., *Aconitum Lycoctonum* L., *A. Napellus* L., *Papaver Rhoeas* L., *Chelidonium majus* L., *Glaucium flavum* Cr., *Conium maculatum* L., *Atropa Belladonna* L., *Nicotiana Tabacum* L., *Datura Stramonium* L., *Colchicum autumnale* L., *Narcissus pseudo-Narcissus* L.

Évitées : *Æthusa Cynapium* L., *Hyoscyamus niger* L.

Recherchées : *Berberis vulgaris* L. (jeune); *Corydalis solida* Sm., *Fumaria officinalis* L., *Brassica nigra* Koch., *Sinapis alba* L., *Sarothamnus scoparius* Koch., *Cytisus Laburnum* L., *Taxus baccata* L.

On peut traduire ces résultats par un tableau, en ne tenant compte que du nombre de genres et non de celui des espèces :

	NOMBRE DE GENRES		
	Dédaignées	Évitées	Recherchées
	p. 100	p. 100	p. 100
I. Plantes coriaces, hérissées, scabres, tranchantes . . . . .	13	49	38
II. Plantes piquantes . . . . .	25	35	40
III. — à huile essentielle . . . . .	21	44	35
IV. — à principes amers . . . . .	35	26	39
V. — à glucosides . . . . .	31	28	41
VI. — à alcaloïdes . . . . .	33	9	38

On voit donc, par ce tableau, que la moitié des plantes à alcaloïdes sont absolument à l'abri de l'attaque des animaux, mais que, par contre, certaines espèces renfermant des alcaloïdes dangereux comme la cytisine, la taxine, sont pourtant recherchées par eux.

L'hypothèse d'ERRERA a été soutenue par tous ses élèves et en particulier par CLAUTRIAU (1), qui a même fait de la répartition des alcaloïdes dans les végétaux un facteur de sélection naturelle. « Si les graines sont très petites et privées d'alcaloïdes (Tabac, Pavot), elles sont généralement produites en quantité considérable, et ce grand nombre assure d'une manière efficace la continuité de l'espèce. L'avantage d'une protection par une quantité d'alcaloïdes forcément très minime n'est ici guère nécessaire. Lorsque les graines acquièrent un certain volume, la plante en produit un nombre plus restreint et l'utilité des alcaloïdes comme moyen de protection devient évidente. Dans chacune s'accumule une certaine quantité de principe actif. Cette accumulation est très variable. Elle se fait sous le tégument, dans les graines relativement petites (Solanées à atropine, Ciguë). Quand l'albumen est mieux développé, c'est dans ses cellules que l'on retrouvera le principe actif (Aconit, Staphysaigre). L'embryon, s'il est petit, enfoncé dans l'albumen, pourra n'en pas contenir ou n'en renfermer que très peu; tandis qu'un embryon bien développé et faisant saillie au dehors, comme celui du *Strychnos*, sera riche en alcaloïde. Enfin, lorsque les cotylédons prennent un développement considérable (Lupin), ce sont eux qui emmagasinent l'alcaloïde, en même temps que les matériaux nutritifs. »

En un mot, pour CLAUTRIAU, l'alcaloïde se localise de façon à assurer une protection efficace. C'est, croyons-nous, aller un peu trop loin. L'alcaloïde n'est pas créé uniquement pour protéger la plante; il arrive que, par hasard, il peut lui rendre ce service en éloignant d'elle certains ennemis, mais rien ne prouve que d'autres animaux ne recherchent pas

1. CLAUTRIAU : Localisation et signification des alcaloïdes dans quelques graines, *loc. cit.*, 52.

cette plante. La chèvre mange impunément les Solanées à atropine, qui sont toxiques pour d'autres animaux; les merles sont friands de baies de Belladone, etc.

TARGIONI TOZETTI<sup>(1)</sup> a constaté que le Tabac cultivé était la proie de nombreux animaux et il en a relevé une liste très suggestive, qui prouve bien que la nicotine ne joue pas ce rôle de protection à un très haut degré. Le Tabac est attaqué par les :

Mammifères . . . . .	3 espèces.
Mollusques . . . . .	4 —
Coléoptères . . . . .	55 —
Orthoptères . . . . .	32 —
Hyménoptères . . . . .	7 —
Hémiptères-Homoptères . . . . .	11 —
Physapodes . . . . .	2 —
Lépidoptères . . . . .	20 —
Diptères . . . . .	17 —
Arachnides . . . . .	4 —
Vers . . . . .	» —

Le Tabac sec est également attaqué par 4 mammifères, 6 coléoptères, 4 orthoptères, 2 arachnides. Pour une plante protégée, ce n'est pas mal!

Etendre cette énumération serait inutile. Le point de vue finaliste de CLAUTRIAU ne saurait être admis, il nuit par son exagération à l'hypothèse d'ERRERA, si séduisante au premier abord.

FELDAUS<sup>(2)</sup>, puis TUNMANN<sup>(3)</sup>, adoptent l'hypothèse d'ERRERA. Ayant constaté un passage d'alcaloïde dans le sol où l'on avait mis les graines à germer, ils en concluent que la terre, ainsi imprégnée de principes toxiques, constitue une zone de protection à la jeune plante. TUNMANN assigne également un rôle défensif à la substance mucilagineuse qui recouvre les cotylédons de la graine de *Strychnos* en voie de germination. Nous avons dit, en effet, au chapitre précédent, que ce revêtement mucilagineux renfermait une partie des alcaloïdes de la graine de noix vomique.

MIRANDE<sup>(4)</sup> admet également ce rôle protecteur des alcaloïdes. Il a constaté que la Cuscute pousse très mal sur les plantes alcaloïdifiées, par exemple sur *A. Napellus* L., *Helleborus niger* L., *Delphinium Staphysagria* L. Cependant, l'*Atropa Belladonna* L., les *Nicotiana* divers, les

1. TARGIONI TOZETTI : Animali et insetti del tabacco in erba e del tabacco secco, Florence, 1891.

2. FELDAUS, *loc. cit.*

3. TUNMANN : Ueber die Alkaloide in *Strychnos Nux-vomica*, L., etc., *loc. cit.*

4. MIRANDE : Recherches physiologiques et anatomiques sur les Cuscutacées. *Th. Doct. Paris, Lille, 1904, 1900.*

*Datura*, donnent asile à des Cuscutes d'une vigueur particulière. MIRANDE prétend que, dans ce cas particulier, la Cuscute réagit contre le poison en fabriquant de la matière grasse dont les suçoirs sont remplis. Cette huile agirait en transformant l'alcaloïde en un sel d'acide gras insoluble (?). Nous ne pouvons savoir si cette explication est exacte. Toutefois, il convient de faire remarquer que les suçoirs des Cuscutes, se développant sur des plantes inoffensives, ne contiennent jamais de matière grasse.

## II. — L'alcaloïde, substance de déchet.

Les auteurs précédents, tout en accordant aux alcaloïdes un rôle primordial de défense, considèrent ces substances comme des produits de déchet. Beaucoup de savants partagent cette dernière opinion, et n'attribuent au contraire à la fonction protectrice qu'une valeur infime.

Les partisans de l'alcaloïde, substance de déchet, tirent leurs arguments : du mode de répartition des alcaloïdes; de leur non utilisation dans la germination, ou dans les expériences de végétations, dans lesquelles l'assimilation est suspendue; de leur apparition dans le développement des graines qui en sont primitivement dépourvues.

L'alcaloïde se localise toujours vers les parties les plus externes : l'épiderme, les poils, que l'on ne peut certainement pas considérer comme des tissus de réserve. On le trouve dans les organes sécréteurs (*canaux sécréteurs* des Ombellifères; *cellules sécrétrices* des Pipéracées, Fumariacées, *laticifères* des Papavéracées, et *cellules à oxalate* des Amaryllidacées). Ce n'est certainement pas la place d'une substance de réserve. Signalons toutefois que, d'après les recherches d'HABERLANDT (1), de PIROTTA et MERCANTILI (2) et de MIRABELLA (3), les laticifères apparaîtraient comme des organes ayant pour but de répandre le latex dans les différents tissus des plantes pour favoriser leur croissance. Quant aux cellules à raphides, on n'est pas encore très fixé sur leurs fonctions.

L'alcaloïde ne sert à rien dans la germination, puisque des graines de *Datura* privées d'alcaloïdes germent tout aussi facilement que d'autres. Il ne sert pas d'aliment azoté à la plante adulte, puisque, si on constate bien une diminution d'alcaloïde dans les rameaux à la suite

1. HABERLANDT : Ueber die anatomische Beziehung des Assimilationssystems zu den Milchröhren, *Bot. Centralbl.*, 12, 142, 1882; 13, 173, 1883.

2. PIROTTA et MERCANTILI : Sui rapporti tra i vasi laticiferi ed il sistema assimilatore nelle piante, *Ann. Ist. bot. di Roma*, 2, 48, 1885.

3. A. MIRABELLA : Sui laticiferi della radici aeres di Ficus, *Contrib. biol. veg.*, 2, 133, 1898.

d'incisions annulaires, celle-ci ne correspond pas à une augmentation des substances albuminoïdes. Au contraire, si, dans ces rameaux, on provoque une augmentation de la quantité d'alcaloïde par privation d'anhydride carbonique, même en présence de lumière, on constate une disparition concomitante d'une partie des matières albuminoïdes. Cette dernière constatation semblerait prouver que, lorsque la plante vit sur ses réserves et utilise ses substances protéiques, l'alcaloïde augmente ou apparaît.

N'est-ce pas d'ailleurs le cas des graines qui ne contiennent pas d'alcaloïdes (Thé, Pavot, Tabac, *Datura* privé de téguments) et peuvent former ce dernier de toutes pièces, en dehors de l'assimilation chlorophyllienne, à partir des substances de réserve contenues dans la graine (1) ?

Cette théorie de l'alcaloïde, substance de déchet, pouvant accessoirement servir de moyen de défense à la plante, a été adoptée par PFEFFER (2) et SACHS (3) qui ne reconnaissent aucun rôle à ces substances. Ils les considèrent comme des « *substances aplastiques* » ne pouvant en aucun cas servir à la nutrition de la plante.

### III. — *L'alcaloïde, substance nutritive.*

À la suite des expériences d'HECKEL, de BARTH, certains auteurs ont voulu voir, dans les alcaloïdes, des substances de réserve azotées. Ils font remarquer que les alcaloïdes se trouvent toujours dans les endroits où l'activité cellulaire est la plus grande. Cet argument peut facilement être retourné contre les partisans de cette théorie. Si les alcaloïdes se trouvent là où la vie est intense, rien ne prouve qu'ils soient nécessaires à la construction de nouveaux éléments. Ils peuvent tout aussi bien être considérés comme des déchets du métabolisme des matériaux de construction. Il est bien évident que, de même qu'une machine qui consomme beaucoup donnera plus de cendres, nous trouverons plus de résidus là où la formation des tissus sera plus intense.

Les alcaloïdes ne se conduisent pas non plus comme de véritables substances de réserve. Fait-on vivre une plante dans l'obscurité ou dans un milieu privé d'anhydride carbonique, on constate la disparition de ses hydrates de carbone de réserve. Rien de semblable avec les alcaloïdes : la privation d'aliments azotés ne provoque pas leur utilisation.

1. Nous avons vu que la caféine apparaissait non seulement dans la plantule, mais qu'on en trouvait également des traces dans les cotylédons (CLAUTRIAU, SUZUCKI).

2. W. PFEFFER : *Physiologie végétale*, traduct. J. FRIEDEL. Paris, 461, 511, 1906.

3. SACHS : *Vorlesungen über Pflanzenphysiologie*, 396, 1882.

Nous avons vu également que l'alcaloïde ne joue aucun rôle dans la germination du *Datura* privé de téguments. BARTH fait très adroitement remarquer que, si les alcaloïdes ne sont pas *indispensables*, rien ne prouve qu'ils soient *inutilisables*. Cela pourrait être soutenu, si l'on ne constatait pas la disparition presque complète de l'alcaloïde dans l'eau du substratum dans lequel se fait la germination (FELDHAUS, CLAUTRIAU, TUNMANN).

ALBO (\*) se prononce nettement pour cette théorie des alcaloïdes, substances de réserve azotées. Pour lui, les alcaloïdes se formeraient dans les feuilles et se rendraient dans les centres de néoformation où l'activité cellulaire est la plus intense. Il s'appuie pour cela sur les expériences de LORSY sur les Quinquinas. Il ne s'expliquerait pas sans cela la présence d'alcaloïde dans le mésophylle et l'émigration dans l'ovaire et le fruit à la maturité. Il fait également remarquer que, si l'alcaloïde était un produit de rebut, il n'augmenterait pas dans les plantes chez lesquelles on enlève le sommet végétatif au moment opportun. De même, chez le *Colchicum* et le *Merendera*, il constate une émigration de la *colchicine* du vieux bulbe vers le jeune bulbe; dans le Pavot, le latex, avant la maturation de la capsule, est riche en alcaloïde, tandis qu'après maturité il n'y en a plus que des traces. Il voit dans tout cela une fonction nutritive nettement caractérisée. Enfin, il réfute les expériences de toxicité, dont nous parlerons dans un instant, en faisant remarquer que des plantes influencées dans leur germination par de faibles quantités d'alcaloïdes peuvent très bien en contenir de fortes proportions dans leurs tissus, sans en être incommodées.

VAN DYCK (\*\*) adopte la théorie précédente et ne voit dans les alcaloïdes que des réserves azotées.

NOUS AVONS VU QUE KELLNER, MAKINO et OGASAWARA (3), WEEVERS et M<sup>me</sup> WEEVERS (4) sont moins absolus dans leurs idées. Ils admettent que la caféine est une substance provenant de la destruction des matières albuminoïdes, substance qui peut être réassimilée par la plante.

\* \* \*

**Valeur nutritive des alcaloïdes.** — Cette théorie de l'alcaloïde considéré comme substance de réserve, ou substance nutritive, trouve son point d'appui le plus sérieux dans les *expériences de nutrition* des plantes au moyen de ces corps azotés.

1. ALBO : Sul significato fisiologico della nicotina nelle piante di Tabacco. *Contrib. biol. veget.*, Palerme, 3, 69-89, 1903; *Arch. d. Sc. phys. et nat. Genève*, 15, 579, 1903.
2. P. B. VAN DYCK : Phytochemische onderzoekingen over Alkaloiden in verband met het Kiemen. *Proefschrift*, Utrecht, 1900.
3. KELLNER, MAKINO et OGASAWARA : *Loc. cit.*
4. WEEVERS et M<sup>me</sup> WEEVERS DE GRAAF : *Loc. cit.*

Les essais dans cette voie sont déjà anciens. Il y a plus d'un siècle que l'on a essayé de faire vivre des végétaux supérieurs en présence d'alcaloïdes. Au début, on recherchait surtout quelle était l'action toxique de ces substances, puis, peu à peu, la méthode s'est affinée. Au lieu de mettre en jeu des doses massives de toxique, on a ajouté graduellement l'alcaloïde, de façon à le faire absorber peu à peu; les solutions alcaloïdiques dans lesquelles les rameaux coupés étaient déposés ont été remplacées par la culture en pots, dans la terre arable, puis en sol stérile. Peu à peu, la croyance à la nocivité des alcaloïdes vis-à-vis des plantes supérieures a fait place à une conception toute différente : celle de l'utilisation possible des bases alcaloïdiques dans des conditions déterminées.

Nous exposerons ces travaux, très brièvement pour ce qui concerne les recherches du début, dont l'intérêt n'est pas immédiat pour notre argumentation, et nous insisterons plus particulièrement sur les résultats acquis dans ces dernières années.

En 1825, MARCET (1) a étudié l'action des poisons végétaux en introduisant les racines de jeunes plants de Haricot dans des solutions toxiques d'extraits d'Opium, de Noix vomique, de Belladone, de Ciguë, de Coque du Levant. Les solutions étaient préparées en dissolvant environ 0 gr. 25 des différents extraits dans 30 grammes d'eau. Dans tous les essais, les plantes plongées, le matin à 9 heures dans les éprouvettes contenant les alcaloïdes, avaient leurs feuilles penchées ou fanées le soir, et mouraient après vingt-quatre heures de contact. Toutefois, il avait pu remarquer une différence d'action suivant les poisons employés. La Noix vomique est très toxique : au bout d'une heure la plante semble déjà souffrir et, le soir, elle est morte. Dans la solution d'extrait de Belladone, au contraire, la plante ne meurt qu'au bout de quatre jours.

ZELLER, élève de SCHÜBLER (2), constata également, de son côté, l'action nuisible des solutions extractives sur les végétaux. Ses essais se firent avec le Seigle ergoté, l'Aconit, le Tabac, l'Hellébore blanc, et d'autres extraits végétaux non alcaloïdiques; dans ses expériences, comme dans celles de MARCET, les plantes mises à l'essai ne tardaient pas à se flétrir ou à mourir.

MACAIRE PRINCEPS (3) voulut constater l'action des poisons sur les plantes qui les produisent. Il plongea des branches de *Datura Stramo-*

1. MARCET : De l'action des poisons sur le règne végétal. *Ann. Chim. Phys.* (2<sup>e</sup> s.), 29, 212-220, 1825.

2. G. SCHÜBLER : Untersuchungen über die Einwirkung verschiedener Stoffe des organischen und anorganischen Reiches auf das Leben der Pflanzen. *Dissert.* présentée par E. A. ZELLER, Tubingen, in-8<sup>o</sup>, 58 p., 1826, résumé. *Flora*, 2, 753, 1827.

3. MACAIRE PRINCEPS : Note sur l'empoisonnement des végétaux par les substances vénéneuses qu'ils fournissent eux-mêmes. *Ann. Chim. Phys.*, 39, 95-97, 1828.

nium L., *Hyoscyamus niger* L., *Momordica Elaterium* L., dans des solutions d'extraits de ces mêmes plantes (de 0,05 à 0,25 centigrammes par 30 grammes d'eau) et remarqua que les feuilles ne tardaient pas à se faner puis à mourir, parfois même en l'espace de deux heures. Il en était de même des plantes cultivées en pots et arrosées avec les solutions extractives précédentes. Toutefois, dans ce cas, l'action était moins rapide.

Dans un autre genre de recherches, PRINCEPS<sup>(1)</sup> put constater que la solution aqueuse d'Opium entrave très rapidement la contractilité des étamines de *Berberis*. GOEPPERT<sup>(2)</sup> ne confirme pas cette dernière expérience et prétend, au contraire, que la solution d'alcaloïdes n'influe en rien sur la motilité de ces étamines. Il fit même toute une autre série d'expériences pour prouver que l'atropine n'aurait aucune action sur la végétation. Il arrosait des plantules de Blé, d'Avoine, de Pois, de Cresson, avec des infusions de Belladone, et constatait qu'elles se développaient tout aussi bien que les plantules arrosées avec de l'eau pure. Il reconnaissait, par contre, une action nuisible aux sulfates de quinine et de cinchonine.

Avec BOUCHARDAT, nous allons déjà serrer le problème d'un peu plus près. Ce savant ne conteste pas l'action nocive des alcaloïdes, mais il constate que cette action est variable, suivant la nature du sol et la nature des bases. La résistance du végétal est d'autant plus grande que la terre est de meilleure qualité. Des Sensitives plongées dans des solutions à 1 p. 200 de chlorhydrate de morphine, ou de quinine, meurent en quelques jours. Cultivées dans le sable, la bonne ou mauvaise terre arable, les plantes résistent d'autant mieux que le sol est meilleur. Enfin, tous les alcaloïdes n'auraient pas la même toxicité. La strychnine et la brucine viendraient en première ligne: les principes actifs de l'Aconit, du Colchique, de la Staphysaigre, de la Cévadille, de la Coque du Levant, sont des poisons assez énergiques.

BOUCHARDAT<sup>(3)</sup> a également constaté que les alcaloïdes ne montent pas dans la plante, car il n'a pu les retrouver dans aucune; ils doivent donc être transformés ou agir par simple présence. En opérant avec le chlorhydrate de morphine, il remarqua en effet que cette base « agit sur les racines, éteint la vie des spongioles et arrête l'absorption ».

1. MACAIRE PRINCEPS : Mémoire sur l'influence des poisons sur les plantes douées de mouvements excitables. *Ann. Chim. Phys.*, 39, 85-95, 1828.

2. GOEPPERT : Sur l'irritabilité des étamines du *Berberis vulgaris* L. *Ann. Sc. nat.* (1<sup>re</sup> s.), 45, 69-83, 1828; Recherches sur l'action de l'acide cyanhydrique et de quelques autres substances sur les plantes. *Ann. Sc. nat.* (1<sup>re</sup> s.), 44, 384-394, 1828.

3. BOUCHARDAT : De l'action qu'exercent sur les végétaux les produits organiques ou inorganiques qui sont des poisons pour les animaux. *C.R. Ac. Sc.*, 47, 112, 1843; De l'influence du sol relativement à l'action des poisons sur les plantes. *C.R. Ac. Sc.*, 22, 674, 1846.

Une autre remarque de BOUCHARDAT est également intéressante à signaler. Il constate que les extraits sont plus nocifs que les sels d'alcaloïdes; c'est ainsi que l'extrait d'Opium agit plus énergiquement que le sel de morphine qu'il contient, et on ne peut imputer cet accroissement de toxicité à la narcotine, puisqu'une solution de 1 p. 1000 de sel de cet alcaloïde n'a aucune action fâcheuse sur la plante.

KNOP et WOLF<sup>(1)</sup>, de leur côté, ont confirmé ces premières recherches prouvant la toxicité des alcaloïdes. Ils ont recherché comment se comportent les différentes substances organiques azotées pendant le développement de la plante et n'ont obtenu que des résultats négatifs. Il faut dire qu'ils faisaient croître leurs végétaux dans des solutions salines aqueuses contenant les substances minérales nécessaires à la nutrition, et auxquelles ils ajoutaient le corps azoté à étudier. L'urée, la morphine, la cinchonine, la quinine, la caféine, la thiosinnamine sont nuisibles au Maïs et au Sarrasin, qui meurent au bout d'un temps variable, suivant l'alcaloïde employé. La morphine est la base qui semble agir le moins désavantageusement. Les auteurs font remarquer que les *nitrates* de quinine, de cinchonine, ne nuisent pas trop à la plante, mais ces alcaloïdes doivent être absorbés après transformation, parce qu'on ne les retrouve pas dans les feuilles des végétaux mis en expérience.

Les expériences de KNOP et WOLF sont loin d'être exemptes de critiques; d'ailleurs, ces auteurs reconnaissent eux-mêmes que leurs résultats négatifs sont dus aux mauvaises conditions de température de l'expérience, et aussi à une mauvaise composition des solutions salines.

Les recherches de RÉVEIL<sup>(2)</sup>, faites la même année, avec beaucoup de soin, l'amènent à infirmer toutes les conclusions de ses prédécesseurs. Il commence par dégager les différents facteurs qui peuvent intervenir dans l'action des poisons sur les plantes, et les auteurs qui viendront après lui n'auront garde d'oublier cette façon d'opérer. Au lieu de s'adresser aux extraits de plantes toxiques, RÉVEIL emploie les sels purs d'alcaloïdes. Il emploie des solutions à 1 pour 1000 de la base (sans tenir compte de l'acide), au lieu de se servir de solutions concentrées<sup>(3)</sup>. Enfin, comme milieu nutritif, il se sert tantôt de terre, de sable calciné, ou, de préférence, de solutions salines. Contrairement à BOUCHARDAT, il constate la présence des alcaloïdes dans les plantes mises en expérience. Prenons, par exemple, ses expériences avec l'atropine.

I. — Deux Balsamines semées et poussées en pleine terre sont arro-

1. KNOP et WOLF : Ueber die stickstoffhaltigen Nahrstoffe der Pflanzen. *Die Landwirthsch. Versuchsstat.*, 7, 463, 1865.

2. P. O. RÉVEIL : De l'action des poisons sur les plantes. *Th. Doct. Lyon, Paris*, 97-122, 1865.

3. BOUCHARDAT employait des solutions à 1 p. 100 de sels d'alcaloïde; MARCET, des solutions extractives au 1/125 environ.

sées, l'une avec de l'eau ordinaire, l'autre avec la solution d'atropine.

La première a ouvert ses fleurs le 29 juillet et ses fruits sont mûrs le 12 août.

La seconde a ouvert ses fleurs le 17 juillet et ses fruits sont mûrs le 28 juillet.

La présence de l'atropine est constatée dans les feuilles et les tiges, mais pas dans les fleurs, ni les fruits.

II. — Une bouture de Laurier-rose est placée dans une solution d'atropine le 7 octobre; elle meurt seulement le 9 novembre, mais il n'y a eu aucune trace d'accroissement et on n'a trouvé d'atropine ni dans les feuilles, ni dans les rameaux.

III. — Des oignons de Jacinthe sont placés dans une solution d'atropine; les racines se sont développées le 22 janvier, les fleurs se sont épanouies le 21 mars. La présence d'atropine a été constatée dans trois fleurs et trois feuilles.

Si on transporte les plantes dans l'eau, l'atropine disparaît des fleurs et des feuilles après quatre jours.

Des oignons témoins placés dans l'eau pure n'ont commencé à fleurir que le 21 mars.

IV. — Des Menthes aquatiques mises dans la solution alcaloïdique se sont très bien développées. Au moment de la récolte, on a pu constater la présence d'alcaloïde dans les feuilles et les tiges; mais cet alcaloïde disparaît pendant la dessiccation de la plante. La solution nutritive examinée ne renferme plus d'alcaloïde. Il faut donc admettre que les plantes l'absorbent ou qu'il se détruit au contact des racines.

V. — Un bulbe de *Crocus* est placé dans du sable préalablement calciné, le 22 janvier, et arrosé avec la solution d'atropine à 1/1000. Le 5 février, trois racines sont développées; le 20 mars, trois feuilles; le 28 mars, ces feuilles atteignent 0<sup>m</sup>,26; on trouve de l'atropine dans les feuilles et dans la partie non enterrée du bulbe.

VI. — On fait germer de l'Orge dans du sable calciné que l'on arrose avec l'alcaloïde. La germination s'est faite plus rapidement que dans l'expérience témoin. En sept jours, les feuilles atteignent 0<sup>m</sup>,022, en douze jours 0<sup>m</sup>,09, en quinze jours 0<sup>m</sup>,215. Les plantes donnent les réactions de l'atropine. Si on cesse de les arroser, les plantes perdent peu à peu leur alcaloïde, et au bout de dix jours la réaction est négative.

RÉVEIL conclut de ses essais que l'atropine est un véritable engrais, puisque les plantes arrosées avec cette base poussent plus vite que les témoins et que l'alcaloïde qui est assimilé par la plante y disparaît rapidement au cours de la végétation.

Des expériences analogues ont été faites avec la morphine, la narcotine, la codéine, la nicotine, la quinine, la cinchonine, la strychnine, et la brucine, et RÉVEIL admet que tous les alcaloïdes peuvent être absorbés

par les plantes. La quinine (1) et la cinchonine nuisent à la végétation; la morphine, la codéine, la nicotine n'ont aucune influence. Les alcaloïdes pénétreraient dans la plante par voie d'absorption et ils y resteraient un temps variable.

Les moins stables, atropine et codéine, sont ceux qui disparaissent les premiers.

Les conclusions de RÉVEIL étaient grosses de conséquences; ses expériences furent reprises, par la suite, par MARCACCI (2) et DE VARIGNY (3), qui ne purent d'ailleurs les confirmer.

MARCACCI a expérimenté avec la morphine, l'atropine, la vératrine, la quinine, la cinchonamine, le sulfate neutre de strychnine, le chlorhydrate de quinine, sur les semences ou les racines des plantes. Il a toujours employé les solutions alcaloïdiques à doses faibles.

Avec les semences, il opère de deux façons. Il laisse macérer celles-ci dans les solutions toxiques et les sème ensuite: on note l'époque et le nombre des germinations. Dans la seconde méthode, les graines sont mises à germer dans du verre pilé et arrosées avec les solutions d'alcaloïdes.

Dans les deux séries d'expériences, MARCACCI a pu constater l'action toxique des alcaloïdes. La nocivité varie avec la nature de ceux-ci. La morphine, la strychnine, la vératrine, mais surtout la quinine et la cinchonamine sont toxiques. Avec des doses, même très faibles, variant de 0,10 à 0,005 pour quarante graines, on a pu constater des différences notables dans le développement des plantes comparativement à des expériences témoins. L'atropine est l'alcaloïde qui a l'action la plus faible. On constate également que ce sont surtout les racines qui se ressentent le plus de l'action du poison. Elles sont courtes, minces, presque sèches. Elles tendent à se diriger vers le haut ou vers le bas, comme si elles voulaient fuir le sol empoisonné. Au microscope, elles se montrent notablement altérées.

Les alcaloïdes sont donc surtout des poisons mortels pour les racines, car, même lorsque au contact de l'alcaloïde la graine n'a pas perdu son pouvoir germinatif, les racines qui en naissent sont atteintes. On peut encore vérifier cette action sur les racines en opérant comme MARCACCI, qui trempe les racines de *Ranunculus acris* L. dans les solutions d'alcaloïdes, et replante ensuite la Renonculacée. On peut encore vérifier cette action

1. STRACKE a reconnu que le chlorhydrate de quinine était le plus toxique des sels d'alcaloïdes pour les plantes; STRACKE: *Onderzoekingen over de immuniteit von hoogere planten voor haart eigen vergift. Proefschrift.*, Amsterdam, 1907.

2. MARCACCI: L'azione degli alcaloidi nel regno vegetale ed animale. *Ann. d. Chim. Farm. Milano*, 5, 3-7, 1887.

3. DE VARIGNY: L'atropine est-elle un engrais végétal? *Rev. gén. Bot.*, 4, 407, 420, 1892.

en ajoutant ces mêmes solutions à des cultures de *Lemna minor* L. (1). La plante ne tarde pas à mourir, surtout en présence de la quinine et de la cinchonamine.

Les recherches de DE VARIGNY ont surtout eu pour but de voir si, selon l'expression originale de RÉVEIL, l'atropine était un engrais. L'auteur a disposé de petits pots remplis aux 4/5 de sable lavé et desséché à 130°-140°. A ce sable, il ajoute de l'eau distillée ou des solutions d'atropine à différents titres, de façon que le liquide arrive au niveau du sable. Les titres des solutions alcaloïdiques étaient à 1/100, 1/200, 1/400. On y sème des lentilles ou du cresson alénois. Au bout de quinze jours, il y a des plantes dans tous les pots, mais les plantes les plus belles sont les plantes poussées sur l'eau distillée. Le poids des plantes, pris sur une moyenne de vingt germinations est de 1 gramme pour les plantes témoins et de 0,40 pour les autres.

Dans une seconde expérience, DE VARIGNY a disposé des vases à fleurs remplis de terre au lieu de sable, dans des solutions d'atropine à 1/200, 1/800. Au bout de dix jours, on pèse la récolte.

La plante témoin . . . . .	pèse 1,25
Dans la solution d'atropine à 1/200 . . . . .	— 1,25
Dans — — — à 1/800 . . . . .	— 1,40

L'atropine semblerait donc avoir eu une action accélératrice; si, au lieu de terre, on met du sable, on trouve :

Plante témoin . . . . .	pèse 0,80
Dans la solution à 1/100 . . . . .	— 0,35
— à 1/200 . . . . .	— 0,45
— à 1/400 . . . . .	— 0,70
— à 1/800 . . . . .	— 0,70

Dans la solution au 1/100, le système racinaire est nul, la plante ne s'enracine pas et c'est d'ailleurs là une particularité des plantes empoisonnées.

Cette différence entre la végétation sur le sable, et la végétation sur la terre est intéressante; nous verrons plus loin que les expériences de LUTZ permettent de l'expliquer en partie, par la présence, dans la terre, de nitrate qui favorise l'absorption de l'alcaloïde.

Dans une troisième série d'expériences, DE VARIGNY essaie l'action de l'atropine en solution au 1/100 sur différentes graines. Le tableau suivant résume les résultats de ces germinations.

1. WEYL, avait déjà remarqué que la strychnine faisait rapidement jaunir les feuilles d'*Elodea canadensis* Michx. WEYL : Ueber dem Einfl. Agentien auf die Assimilation grösse grüner Pflanzen. *Sitz. Erlangen phys. med.*, 1881.

	ORGE	MAÏS	CRESSON	RADIS	LAITUE	LENTILLE	SOLEIL	SARRASIN	FOIS
<i>3 jours :</i>									
Atropine. . . . .	3	5	2	4	7	5	1	3	5
Témoin . . . . .	4	3	2	7	4	5	5	3	4
<i>6 jours :</i>									
Atropine. . . . .	3	5	4	4	6	5	2	3	5
Témoin . . . . .	4	5	3	7	3	5	5	3	5
<i>21 jours :</i>									
Atropine. . . . .	3	4	4	4	5	5	2	3	4
Témoin . . . . .	5	3	3	7	3	5	5	3	4

D'après cela, on pourrait, avec l'auteur, partager les graines en trois catégories : celles pour lesquelles l'atropine est défavorable, indifférente, ou favorable. Mais, en général, l'atropine ne semble pas avoir une action considérable sur la germination et sur les récoltes; elle diminue le poids de ces dernières, et cela d'autant plus que la plante a poussé dans un milieu plus riche en atropine. Pour DE VARIGNY, l'atropine ne possède donc pas le rôle d'engrais que lui assigne RÉVEIL.

CORNEVIN<sup>(1)</sup> a fait des constatations analogues à celles de DE VARIGNY, concernant l'influence favorable ou défavorable des alcaloïdes lors de la germination des graines. Il opère avec le Tabac et la nicotine, le Pavot et les alcaloïdes de l'opium. La nicotine entrave la germination; des graines de Tabac immergées trente-huit heures dans une solution à 1/50 de nicotine, eurent leur développement retardé de quarante-huit heures.

Des graines semées dans une terre arrosée de nicotine germèrent avec un retard de dix jours.

La germination des graines de Pavot en présence de solution d'extrait d'opium, est avancée de vingt-quatre heures, et cela avec une proportion plus élevée de graines fertiles. La narcotine, la codéine, la narcéine, agissent dans le même sens; la morphine et la thébaïne ne semblent exercer aucune influence; la papavérine provoque un retard dans la germination.

1. CH. CORNEVIN; Action des poisons sur la germination des graines des végétaux dont ils proviennent. *C. R. Ac. Sc.*, 113, 274, 1891.

DE TONI et MACH<sup>(1)</sup> ont confirmé les résultats de CORNEVIN sur l'action retardatrice de la nicotine.

D'après eux, la solution de nicotine à 1 ou 2 p. 100, employée en arrosage continu, empêche la germination. Les semences trempées dans des solutions semblables germent avec un retard très prononcé.

U. Mosso<sup>(2)</sup>, dans une série d'expériences très bien conduites, détermine avec précision les doses d'alcaloïdes qui pourraient produire une action excitante sur la germination. Il a préparé des solutions à 2/100, 1/100, 0,5/100, 0,10/100, 0,05/100, 0,01/100, 0,005/100, 0,001/100, 0,0005/100, 0,0001/100 de chlorhydrate de morphine. Il fait germer des graines de *Phaseolus multiflorus* Willd. disposées au fond d'un vase, sur du coton imbibé de ces diverses solutions alcaloïdiques. Il remarque que la solution dont l'action est la plus favorable est la solution à 0,001/100. La jeune plante atteint 12 centimètres de longueur, double de celle obtenue avec les semences mises à germer sur du coton imprégné d'eau pure. Les solutions à 2/100, 1/100, 0,50/100 arrêtent tout développement; dans les solutions à 0,10/100, 0,05/100, 0,01/100, les plantes avaient un développement inférieur à celui du témoin.

Avec la nicotine, le maximum d'accroissement se produit dans la solution à 0,01/100; il en est de même pour le chlorhydrate de cocaïne. Avec le sulfate de strychnine, c'est la solution à 0,005/100 et, pour le sulfate d'atropine, la solution à 0,0005/100, qui possèdent l'action activante la plus grande. L'action toxique varie également avec chaque alcaloïde; dans la nicotine, la germination ne commence à se produire que dans la solution à 0,5/100; dans la cocaïne, il faut atteindre 0,10/100.

Ces expériences montrent très nettement que les alcaloïdes, employés à forte dose, ont une action toxique, à faible dose, une action excitante; les quantités nuisibles ou utiles varient avec chaque alcaloïde et probablement chaque plante. Ainsi s'expliquent un peu tous les résultats contradictoires que nous avons signalés dans le courant de cet exposé.

MIRANDE<sup>(3)</sup> a également essayé l'action des substances toxiques sur la germination. Il a surtout utilisé les sels d'acides organiques de l'atropine, de la morphine, de la brucine, et surtout de la quinine. Il ne donne d'ailleurs que les résultats obtenus avec les solutions de valériate de quinine au 1/100, 1/500, 1/1.000, 1/1.500, 1/2.000, sur les ger-

1. G. B. DE TONI et MACH : Sopra l'influenza esercitata dalla nicotina e dalla solanina sulla germogliazione dei semi di Tabacco. *Boll. d. r. Istituto d. Università Parmense*, 63-68, 1892-1893.

2. UGO LINO MOSSO : Azioni di alcuni alcaloidi sul germogliamento dei semi e sul successivo sviluppo della pianta. *Att. d. Soc. Ligustica di scienze nat. e. geogr. Genova*, 5, 1-8, 1894.

3. MIRANDE : *Th. Doct.*; *loc. cit.*, 112, 1900.

minations de Pois, Haricot, Chanvre. Il constate que dans la solution à 1/100, il n'y a pas de germination, et qu'il faut arriver à la solution à 1/1.000 pour obtenir le développement de la graine. Avec la solution à 1/2.500, il y a bien germination, mais l'action retardatrice est très manifeste puisque la plantule de Chanvre n'atteint que 16 millimètres, au lieu de 19 centimètres dans l'eau pure. MIRANDE se demande si les alcaloïdes n'exerceraient pas une action retardatrice sur les ferments de la germination. Cela n'aurait rien d'extraordinaire, puisque BOUCHARDAT (1) a prouvé que l'action de l'amylase était entravée par les alcaloïdes et, en particulier, par le valérianate d'atropine.

OTTO (2) conclut également, à la suite de recherches sur l'action de la strychnine sur les plantes, à l'action nocive des alcaloïdes. Il constate que les plantes d'un sol sableux traité à la strychnine deviennent vert pâle et sont retardées dans leur développement; elles fleurissent, mais ne peuvent fructifier; cultivées dans l'humus et également arrosées avec une solution de strychnine, elles se développèrent mieux et purent fructifier, mais furent quand même en retard sur des plantes témoins. Il en est de même pour des graines semées dans un sol sableux, ou dans l'humus, arrosées avec une solution de phosphate de strychnine. Les graines jetées dans l'humus se développèrent avant celles du sol sableux, mais en retard sur celles semées dans une terre non empoisonnée. Les plantules du sol sableux ne tardèrent pas à mourir, tandis que deux plantes de l'humus purent se développer normalement. Mais OTTO (2) fit une remarque très intéressante; il constata que le sable et la terre ne renfermaient plus de strychnine au bout d'un certain temps et, cependant, dans ses premières expériences, il avait employé, pendant un espace de trois semaines, 10 gr. 50 de phosphate de strychnine pour 2 kilogrammes de terre. Il en déduit que le sol a le pouvoir de détruire le poison qu'on lui incorpore et, par une série d'expériences avec FALCK (3), il essaie de démontrer cette valeur de « désintoxication du sol ».

Jusqu'ici, toutes les recherches que nous avons analysées ne parlent guère en faveur du rôle nutritif des alcaloïdes. RÉVEIL, qui attribue à l'atropine la valeur d'un engrais, est obligé de reconnaître lui-même que les autres alcaloïdes sont plutôt nuisibles pour les plantes.

1. BOUCHARDAT : Sur la fermentation saccharine ou glucosique. *Ann. Chim. Phys.* (3<sup>e</sup> s.), 14, 61, 68, 1845.

2. OTTO : Ueber den Einfluss von Strychninsalzlösungen auf die Entwicklung von Pflanzen in verschiedenen Bodenarten. *Zeitschr. f. Pflanzenkrankh.* 4, 210, 1894.

3. R. OTTO : Welchen Einfluss haben Strychninsalzlösungen auf die Entwicklung von Pflanzen in Sand und Humusboden. *Naturw. Wochensch.* 9, 625-626, 1894.

4. R. OTTO et FALK : Neuere Versuche des Entgiftungskraft des Erdbodens. *Naturw. Wochensch.*, 7, 103, 1892; Weitere Untersuchungen über die Entgiftungskraft des Erdbodens., *Naturw. Wochensch.*, 7, 515, 527, 575, 1892; Neuere Versuche des Entgiftungskraft des Erdbodens. *Landwirthsch. Jahr.*, 25, 1007-1023, 1896.

La nutrition des végétaux à l'aide de substances azotées de nature organique (alcaloïdes) a été étudiée tout particulièrement par LUTZ<sup>(1)</sup>, dans ces dernières années. Il a fait agir les solutions alcaloïdiques sur les Phanérogames, les Algues et les Champignons.

Pour les Phanérogames, il opère avec les graines qu'il met à germer dans des conditions particulières. La graine est semée dans du sable siliceux lavé et calciné. Le sable est humecté avec un liquide nutritif renfermant les alcaloïdes. On prélève la plante au bout d'un certain temps, on la sèche, on la pèse et on y dose l'azote. Comme on a primitivement dosé l'azote dans les graines, la comparaison entre les deux chiffres renseigne sur le gain ou la perte en azote. Il faut évidemment opérer dans des conditions d'asepsie rigoureuse, de façon que les agents extérieurs ne puissent exercer aucune action pouvant fausser les résultats. LUTZ a constaté que la caféine, base libre<sup>(2)</sup>, est toxique vis-à-vis des Phanérogames; quant au chlorhydrate de caféine, il se conduit comme une substance non assimilable<sup>(3)</sup>. Le chlorhydrate de quinine, le chlorhydrate de cocaïne, le sulfate d'atropine même ne peuvent servir de source d'azote à la plante. Bien mieux, l'auteur constate que, pendant ce développement, au lieu d'un gain, c'est une perte d'azote que l'on constate. Ce corps ne se dégage ni sous forme de composés nitriques, ni sous forme de composés ammoniacaux. Il se dégage, selon lui, à l'état gazeux. Cette perte d'azote est due à des phénomènes de désassimilation comparables, jusqu'à un certain point, à une auto-fermentation. D'après LUTZ, la cause de ce phénomène doit être recherchée dans une végétation prolongée de la plante en état de dénutrition azotée, et la perte d'azote semble être un des prodromes de la mort du végétal. Tant que la graine germe, il n'y a aucune perte d'azote; c'est lorsque ce stade est dépassé que l'azote disparaît, même en l'absence de microorganismes.

De même, en opérant avec les Alguesensemencées sur un liquide de MOLISCH, additionné du sel de l'alcaloïde à étudier, il ne s'est produit

1. L. LUTZ : Recherches sur la nutrition des végétaux à l'aide de substances azotées de nature organique (amines, sels d'ammoniums composés et alcaloïdes). *Th. Doct.*, Paris, 1898; Sur le rôle des alcaloïdes envisagés comme source d'azote pour les végétaux. *Bull. Soc. Bot. de France* (4<sup>e</sup> s.), 3, 118-128, 1903; Sur l'emploi de substances organiques comme source d'azote pour les végétaux vasculaires et cellulaires. *Bull. Soc. Bot.* (4<sup>e</sup> s.), 5, 201, 1905; Sur la nutrition azotée des plantes phanérogames à l'aide des amines, des sels d'ammoniums composés et des alcaloïdes. *C. R. Ac. Sc.*, 126, 1227, 1898; Recherches sur la nutrition des végétaux à l'aide des substances azotées de nature organique. *Ann. Sc. nat. Bot.*, 7, 1-103, 1899.

2. SAWA a également constaté la toxicité de la caféine pour les plantes à la dose de un millième; SAWA : An caffein and antipyrin in high degree poisonous for plants? *Bull. of the college of Agriculture*. Tokyo, 4, 413-414, 1901.

3. OVERTON, en étudiant la pénétration des divers alcaloïdes dans les cellules végétales, a montré que les sels d'alcaloïdes étaient moins toxiques que les alcaloïdes eux-mêmes; OVERTON : Ueber die osmotische Eigenschaften der Zelle in ihrer Bedeutung für die Toxikologie und Pharmakologie. *Zeitschr. f. Phys. Chem.*, 22, 189, 1897.

aucun développement. Cette dernière expérience se trouve infirmée par COMÈRE (1), qui a pu faire prospérer des cultures d'*Ulothrix subtilis* Kütz. (?) et de *Spirogyra crassa* Kütz. dans des milieux nutritifs ne contenant pas d'azote et auxquels on ajoutait progressivement des sels d'alcaloïdes. Certains de ces corps ne peuvent servir à la nutrition des Algues; d'autres, au contraire, sont parfaitement assimilés en l'absence de tout aliment azoté. La morphine, l'atropine, la cocaïne, par ordre décroissant, sont directement assimilés; les sels de quinine sont assimilables, et ceux de strychnine nettement toxiques. Il en faut une quantité de 0,002 p. 100 pour tuer le *Spirogyra*, et 0,008 p. 100 pour l'*Ulothrix*.

Dans les expériences sur les Champignons, LUTZ a reconnu que les alcaloïdes employés seuls, comme source d'azote, ne pouvaient servir à la nutrition de ces végétaux. Mais il n'en est plus de même si on les ajoute à un milieu nutritif contenant de l'azote directement assimilable. Ce dernier agit comme agent d'entraînement, et l'on peut arriver à faire absorber aux Champignons des doses considérables (jusqu'à 1 gr. 30 de chlorhydrate de cocaïne, et 0 gr. 71 de chlorhydrate de quinine en seize jours). De plus, cette absorption d'alcaloïde se traduit par une notable augmentation de poids de mycélium. Enfin, on peut constater que, plus la grandeur moléculaire de l'alcaloïde est élevée, moins il est assimilable.

De son côté, A. CHARPENTIER (2) a montré que la cocaïne employée à petite dose n'arrête ni la fermentation, ni la germination, tandis qu'à forte dose (solution à 5 p. 100), elle arrête la fermentation sans toutefois détruire la Levure. P. REGNARD (3) ayant mis en doute cette sorte de pouvoir anesthésiant, A. CHARPENTIER (4) montra que si l'on mettait de la Levure en présence de solution de chlorhydrate de cocaïne, de strychnine, de morphine à 5 p. 100, il n'y avait pas fermentation dans les deux premiers et fermentation dans le troisième. Mais si on lave les Levures des deux premières expériences, et si on les réensemence dans un nouveau liquide sucré, la Levure qui a été en présence de la strychnine est tuée et ne provoque plus la fermentation, tandis qu'après action de la cocaïne, elle peut encore agir sur le sucre.

YASUDA (5) a obtenu des résultats identiques, en opérant dans des conditions analogues.

1. COMÈRE : Du rôle de l'alcaloïde dans la nutrition des Algues. *Bull. Soc. Bot.*, 57, 277, 1910.

2. A. CHARPENTIER : Action de la cocaïne sur la fermentation alcoolique et la germination. *C. R. Soc. Biol. (8<sup>e</sup> s.)*, 2, 17, 1885.

3. P. REGNARD : Action de la cocaïne sur la fermentation alcoolique. *C. B. Soc. Biol.*, (8<sup>e</sup> s.), 2, 32, 1885.

4. A. CHARPENTIER : Remarques et expériences sur l'anesthésie de la fermentation et de la germination par la cocaïne. *C. R. Soc. Biol. (8<sup>e</sup> s.)*, 2, 83, 1885.

5. YASUDA : On the effects of alkaloids upon some mould. *Bot. Magaz. Tokyo*, 15, 79-83, 1901.

CLAUTRIAU supposait que le champignon avait besoin d'azote minéral pour acquérir un certain développement qui lui permettait ensuite de détruire et d'utiliser la molécule alcaloïdique. LUTZ a démontré qu'il s'agit bien d'un véritable *entraînement*. Pour cela, il fait des cultures de champignons en présence de nitrate d'ammoniaque; lorsque le mycélium est assez développé, il soutire ce liquide azoté et le remplace par un autre ne contenant que le sel d'alcaloïde. Aussitôt, la végétation s'arrête d'une façon brusque dans les flacons où l'on vient ainsi de supprimer l'azotate d'ammoniaque. Au contraire, dans les milieux contenant à la fois l'azote sous les deux formes, la végétation se poursuit normalement jusqu'à ce que tout l'azote ammoniacal soit transformé. L'azote alcaloïdique n'est donc absorbé que tant qu'il y a de l'azote ammoniacal dans le milieu nutritif.

LUTZ pense que les Phanérogames doivent se comporter comme les champignons<sup>(1)</sup>; mais comme les besoins d'azote des végétaux supérieurs sont très faibles par rapport à ceux des Champignons, ils ne permettent de semblables recherches qu'avec les plus grandes difficultés.

Il y aurait donc une sorte d'analogie entre les alcaloïdes et l'asparagine. Cette dernière peut prendre naissance aux dépens des matières albuminoïdes et les régénérer, par un phénomène inverse, au contact d'un excès d'hydrate de carbone. S'il y a pénurie de ces substances hydrocarbonées, la reconstruction est entravée et l'asparagine s'accumule dans les tissus. Les alcaloïdes ne seraient capables de se transformer en substances protéiques qu'en présence d'azote minéral. Ils constitueraient donc un terme intermédiaire entre la matière minérale azotée et les albuminoïdes, dont l'utilisation serait subordonnée à un afflux d'azote minéral.

. . .

Nous avons tenu à rappeler, dans cet exposé, les résultats expérimentaux qui constituent le principal argument des partisans du rôle nutritif des alcaloïdes. Nous savons que, dans certaines conditions, et sous certaines réserves, l'alcaloïde peut servir d'aliment à la plante; à faible dose, il semble activer la germination des graines; à dose plus forte, il peut être assimilé par les champignons en présence d'un sel minéral azoté. LUTZ en tire cette conclusion, contraire à ce que nous savons, que les plantes venues en terrain pauvre (plantes sauvages) seraient plus riches en alcaloïdes que celles développées en sol riche, l'absence ou le déficit de nitrate, dans les premiers, empêchant l'assimilation des bases azotées qui

1. DE TONI est cependant arrivé à faire développer le *Coix Lacryma* L. dans des solutions d'azotate de strychnine sans trace d'azote minéral. Avec le sulfate de strychnine, il n'a obtenu qu'un résultat partiel.

DE TONI : Lettre à LUTZ. *Bull. Soc. Bot.*, loc. cit., 5, 201, 1905.

s'accumulent alors dans le végétal. Cette explication ne nous semble pas juste, puisque nous avons vu que la culture avec engrais augmente au contraire la proportion d'alcaloïdes dans les plantes.

Nous avons vu quels arguments démontrent que les alcaloïdes sont des substances de déchet : non utilisation lors de la germination ; répartition particulière, augmentation de ces substances dans les expériences d'annélation en l'absence de toute assimilation ; non utilisation de ces corps lorsque la plante vit dans un milieu privé de substances azotées. Ils permettent d'envisager l'alcaloïde, non comme un produit direct de l'assimilation, mais comme une substance dérivant de la destruction des matières azotées complexes, destruction qui se manifeste dans toute activité cellulaire. En un mot, on rencontrerait ces substances sur le chemin qui revient des albuminoïdes.

Les partisans de l'alcaloïde « substance nutritive », ne contredisent pas cette façon de voir, ils admettent simplement que ce corps peut être réutilisé, dans certaines circonstances. Ce ne serait donc plus qu'un *aliment conditionnel*.

Il est évident que le mot déchet employé en physiologie peut être compris de diverses façons. On peut dire par là que la substance est devenue inutilisable, et ne présente plus aucun profit pour l'organisme qui l'a produite ; on peut très bien désigner par ce mot une substance éliminée d'un cycle de réaction, mais qui peut rentrer dans un cycle de réactions nouvelles. Ainsi, l'acide carbonique est un déchet de la respiration, mais, sans quitter l'organisme, il peut rentrer dans le cycle de l'assimilation. Le soufre, le phosphore offrent des migrations analogues : ils entrent dans les molécules protéiques complexes et, lors de leur destruction, ils réapparaissent comme déchet sous forme de sulfate et phosphate. Absorbés à l'état de sulfate et de phosphate, ils reviennent à leur état primitif, susceptibles d'être repris à nouveau dans la construction de nouvelles molécules albuminoïdiques.

En est-il de même de l'azote ? c'est possible. Arrivé dans la plante à l'état de composés nitriques ou ammoniacaux, l'azote se transforme en composés organiques complexes. Lors de l'utilisation de leurs substances quaternaires, la désintégration, le morcellement de leurs molécules nous donneront des déchets : les alcaloïdes. Ceux-ci, à leur tour, pourront subir de nouvelles transformations qui les ramèneront à l'état de molécules plus simples, aptes à rentrer dans le cycle de l'assimilation<sup>(1)</sup>. Les partisans de l'hypothèse de l'alcaloïde « substance de déchet » ont

1. Dans le chapitre sur la formation des alcaloïdes, nous avons vu que la constitution de ces corps ne permettait pas, d'après WINTERSTEIN, de concevoir la reconstitution des matières albuminoïdes par simple condensation de ces substances azotées.

souvent partagé cette manière de voir; elle a d'ailleurs été très bien exposée par CLAUTRIAU. Les partisans du rôle nutritif de l'alcaloïde vont plus loin, ils veulent que ce résidu alcaloïdique puisse être absorbé et assimilé directement. On voit donc que la différence qui sépare les deux écoles est minime, d'autant plus que l'assimilation de ce déchet ne peut se faire, d'après les expériences des défenseurs mêmes de cette théorie, que si certaines conditions sont exactement remplies.

Il y aurait donc dans la vie de la plante deux stades bien distincts quant à l'évolution des alcaloïdes : un stade de production, et un stade de destruction, ces deux phénomènes pouvant être simultanés. La quantité d'alcaloïde existant à un moment donné dans une plante serait une résultante, représenterait donc la différence entre la quantité d'alcaloïde qui a été formée, et celle qui a été détruite (1). Aussi longtemps que le développement est intense, l'alcaloïde ne diminue pas, puisque ce sont les endroits de grande croissance qui sont par excellence le siège de la formation de l'alcaloïde; après la floraison ou la fructification, lorsque la croissance se ralentit ou s'arrête, la plante ne cesse pas pour cela de vivre et peut continuer son travail de destruction pendant un temps plus ou moins long.

Ceci peut être vrai et constitue l'un des arguments les plus sérieux de ceux qui considèrent les alcaloïdes comme des substances nutritives. Si, disent-ils, l'alcaloïde est une substance de déchet non utilisable, pourquoi la quantité d'alcaloïde varie-t-elle au cours de la végétation, et pourquoi, puisqu'il s'en forme sans cesse, cette quantité ne va-t-elle pas en augmentant? Pour les plantes vivaces, on pourrait répondre que cet alcaloïde se localise dans les écorces (Quinquina), principalement dans les parties superficielles, où il peut être détruit ou éliminé par les rhytidomes. Mais, pour les plantes annuelles (Belladone), cet argument ne manque pas de valeur, car nous savons que la teneur en alcaloïde de la racine varie peu et que cet organe ne peut donc pas être considéré comme un organe de réserve.

Mais il y a un fait qui, à notre avis, n'a pas suffisamment retenu l'attention des biologistes. Nous avons vu que CLAUTRIAU, dans des

1. CLAUTRIAU va même jusqu'à admettre que les différences de composition que l'on constate entre des espèces très voisines, sont dues à cette discordance entre la production et la destruction de l'alcaloïde. Suivant l'intensité de l'un ou de l'autre processus, on pourrait rencontrer des espèces riches en principes actifs et d'autres qui n'en renferment que des traces, ou en sont complètement privées. Il en résulterait que des plantes dans lesquelles l'analyse n'indique pas la présence de ces corps pourraient cependant en fabriquer. La formation d'alcaloïdes serait alors un phénomène général, s'étendant à tous les végétaux et non particulièrement à certains d'entre eux. C'est pourquoi, la répartition des alcaloïdes serait aussi vaste et ne serait pas restreinte à un petit groupe bien déterminé de végétaux comme cela a lieu pour les résines (Conifères, Térébinthacées) et les caoutchoucs (Euphorbiacées, Apocynacées).

recherches sur la capsule de Pavot, a constaté une perte d'azote lors de la maturation des graines. De même, LUTZ, dans ses expériences de nutrition des Phanérogames au moyen des alcaloïdes, a constaté une perte d'azote à l'état gazeux, perte, selon lui, due à un phénomène de désassimilation. Evidemment, cette perte ne peut être attribuée uniquement à une diminution des alcaloïdes, puisque, dans les expériences de CLAUTRIAU, cette diminution affecte également l'azote albuminoïdique et l'azote des nitrates. De plus, elle peut être constatée en l'absence d'alcaloïdes.

Il y a là cependant un point intéressant qui devra être élucidé par ceux qui voudront reprendre cette question du rôle des alcaloïdes. Pour nous, elle est l'expérience primordiale par où devra être abordée la question.

Nos préférences vont à l'hypothèse émise par CLAUTRIAU, mais nous devons tenir compte des récentes expériences de nutrition des végétaux au moyen des composés organiques azotés, et nous tenir sur une prudente réserve. Les alcaloïdes ne sont certainement pas des aliments au sens absolu du mot; peut-être, *lorsque certaines conditions sont remplies*, sont-ils assimilés directement; mais, dans tous les cas, leur caractère de substance de déchet, dans le sens que lui a attribué CLAUTRIAU, semble être démontré par toutes les expériences que nous avons rapportées dans notre travail.

## BIOLOGIE DES GLUCO-ALCALOÏDES

### *Migration et rôle de la Solanine.*

En raison de sa composition particulière, la *Solanine* mérite d'être traitée à part. C'est qu'en effet, dans les essais de nutrition que l'on pourrait faire avec cette substance, il faut considérer surtout l'action de ses produits de dédoublement. Le sucre qui prend naissance, produit essentiellement utilisable, pourrait être assimilé alors que le résidu alcaloïdique ne le serait pas, de telle sorte que l'on attribuerait à la solanine entière le rôle nutritif particulier à l'hydrate de carbone de sa molécule.

D'ailleurs, les essais de nutrition avec ce gluco-alcaloïde sont rares<sup>(1)</sup> et n'ont pas donné de grands résultats.

BOUSSINGAULT<sup>(2)</sup> avait émis l'opinion que la solanine pouvait exercer, dans le *Solanum tuberosum* L., des fonctions physiologiques identiques à celles de l'asparagine dans les Papilionacées. La même opinion a été soutenue par DEHÉRAIN<sup>(3)</sup> qui a fait de la solanine une forme de transport de l'albumine. Mais aucun des deux auteurs n'a fait d'expériences méthodiques en vue de vérifier cette hypothèse.

Le rôle physiologique de la solanine a été particulièrement étudié par ALBO<sup>(4)</sup> qui a suivi les migrations de ce gluco-alcaloïde dans les Solanées au moyen des réactions microchimiques. Cette étude est facilitée par la sensibilité des réactions colorées. C'est ainsi que la réaction caractéristique avec l'acide *sulfo-séléinique* se produit avec 0,000025 de solanine ; avec l'acide *sulfurique alcoolisé* la réaction est moins sensible : elle ne se produit qu'avec 0,0005 de substance ; par contre 0,00001 de ce gluco-alcaloïde donne une belle coloration avec l'acide *sulfovanadique* (réactif de MANDELIN). Les expériences ont été faites avec les graines de *S. tube-*

1. Rappelons que DE TONI et MACH ont constaté que la solution de solanine à 0,50 p. 100 ne gêne en rien la germination des graines de Tabac et que BOUCHARDAT a signalé l'action très faible de la solanine sur la végétation des plantes adultes ; DE TONI e MACH : *Sopra l'influenza esercitata dalla nicotina ed dalla solanina, etc.*, *loc. cit.*, 63, 68 ; BOUCHARDAT : *C. R. Ac. Sc.*, *loc. cit.* 1846.

2. BOUSSINGAULT : De la végétation dans l'obscurité. *Ann. Sc. nat.* 1, 323, 1864. note 2.

3. DEHÉRAIN : Nutrition de la plante. *Encyclopédie FRÉMY*, 82, 22, 1885.

4. G. ALBO : Sulla funzione fisiologica della Solanina, *loc. cit.*

*rosam* L., *S. sodomaeum* L., *S. Lycopersicum* L., *S. Melongena* L., *S. Dulcamara* L., *S. nigrum* L., *Capsicum annuum* L., et sur les tubercules de Pomme de terre. L'auteur a d'abord suivi la migration de ce gluco-alcaloïde sur de jeunes germinations faites dans des conditions normales, puis sur des graines mises à germer à l'obscurité ou dans un milieu privé d'anhydride carbonique.

Dans la graine, la solanine, d'après ALBO, est uniquement située dans les cotylédons. Au début de la germination, elle y reste localisée; puis, elle diffuse dans l'axe hypocotylé et la tige, jusqu'à une certaine distance des cotylédons. Au fur et à mesure du développement de la petite plante et jusqu'à l'apparition de la cinquième ou sixième feuille, la réaction de la solanine va en diminuant. Bientôt, on ne la trouve plus ni dans les racines, ni dans les tiges : elle ne persiste que dans les jeunes feuilles et dans les endroits à croissance active (point végétatif). Une seconde période de végétation commence alors; la plante se développe bien, elle acquiert huit à neuf feuilles et quelques rameaux. A ce moment, la solanine se reforme dans les feuilles et plus particulièrement dans les feuilles adultes; les feuilles jeunes sont moins riches en gluco-alcaloïde. Finalement, on la trouve dans la tige.

Si, au lieu d'opérer avec des plantules, on s'adresse aux tubercules de *Solanum tuberosum* L., on constate des faits analogues. La solanine est ici localisée presque exclusivement dans les couches périodermiques du phelloderme; on la rencontre également en petite quantité dans le parenchyme central et à l'intérieur des faisceaux fibro-vasculaires. Si l'on fait germer ce tubercule, on retrouve la solanine dans les jeunes pousses, aussi bien dans la moelle que dans les cellules sous-épidermiques, la localisation exacte étant très difficile à effectuer par suite de la diffusion de la coloration.

De ces premières expériences, ALBO a conclu que, au début de la végétation, la solanine diminue visiblement, ne subsistant qu'à l'état de traces dans les feuilles et sommets végétatifs, puis augmente lorsque la plante est bien développée et en état de croissance, pour se retrouver finalement en abondance dans la plante adulte.

Pour se rendre compte si la disparition de la solanine ne pourrait pas être totale, ALBO refit les mêmes expériences à l'obscurité. Les graines de Solanacées, mises à germer dans ces conditions, donnèrent des plantes étiolées, avec une tigelle très longue et des feuilles mal développées. La solanine se trouve dans les cotylédons et le bourgeon terminal, tandis qu'elle est absente des racines et n'existe qu'à l'état de trace à la partie supérieure de l'axe hypocotylédonaire, au voisinage des cotylédons. En suivant l'évolution de la plante, on remarque que la solanine reste stationnaire pendant un certain temps. Elle va ensuite en diminuant graduellement du milieu du cotylédon vers les bords et, tandis qu'au centre

on n'obtient plus avec les réactifs qu'une légère teinte rouge vin, au bord des cotylédons et à l'extrémité végétative, la belle réaction microchimique reste entière. Puis, peu à peu, la solanine diminue, elle finit par disparaître des cotylédons et, enfin, du point végétatif. La plante commence alors à languir, et finalement elle meurt.

Dans les tubercules de *Solanum tuberosum* L. mis à croître à l'obscurité, la solanine se trouve, au début, en abondance dans toute la tige, dans la moelle, dans l'écorce, dans les racines aériennes, et principalement dans les bourgeons terminaux. Plus tard, la répartition du gluco-alcaloïde est surtout limitée aux couches cellulaires voisines du phellogène; on n'en trouve plus dans la moelle; par contre, il est abondant au sommet végétatif. S'il se développe d'autres tiges et d'autres feuilles, la solanine se retrouve dans les extrémités où la croissance est intense. Lorsque le tubercule commence à s'épuiser, la solanine diminue et disparaît successivement des différents organes pour se localiser uniquement dans les endroits où la vie est plus active. En continuant l'expérience, toujours en l'absence de lumière, la solanine finit par disparaître et, après quelques jours, la plante meurt.

Si, au lieu de mettre en observation un tubercule entier, on n'en avait mis qu'un fragment portant un bourgeon, les petites racines auraient atteint 10 à 15 centimètres de long, avec des feuilles très rudimentaires, et il ne se serait pas développé de racines aériennes. Pendant la première période de végétation, on constate la présence de solanine dans toute la tige. Si, à un moment donné, on déterre la partie de tubercule qui a produit cette racine et qu'on y recherche la solanine, on voit que cette dernière se trouve uniquement située dans une zone formant un anneau tout autour du bourgeon primitif, tandis que, dans un fragment de tubercule témoin n'ayant pas germé, elle est abondante dans toute la partie périphérique. Au fur et à mesure que la végétation avance, on ne la trouve plus que dans l'extrémité supérieure de la tige et dans les bourgeons terminaux et axillaires. Puis, rapidement, elle disparaît et la plante meurt.

Dans une troisième et dernière série d'expériences, ALBO a tenté de voir si la production de ce principe alcaloïdique n'était pas liée au phénomène d'assimilation. Il a donc semé et fait développer ses graines dans un milieu privé d'anhydride carbonique au moyen d'un dispositif particulier. Dans la première période de végétation, la solanine se trouve presque entièrement dans les cotylédons et la gemmule. Lorsque la plante est languissante, on n'en trouve même plus trace dans le point végétatif. Si on continue l'expérience, la plante meurt. Mais si, lorsque le principe alcaloïdique a disparu, on vient à remettre la plante à la lumière, la solanine réapparaît au bout d'un certain temps. C'est ainsi que des plantules de *S. sodomum* L., après végétation à l'obscurité pendant qua-

rante-deux jours, ne renferment plus de solanine. Si on les transporte à la lumière, les plantes se mettent à pousser très lentement. Dès que la chlorophylle apparaît, les feuilles, les tiges se développent; au bout d'un mois il y a quatre feuilles, mais la tige n'a pas augmenté de longueur. Pendant cette période, il n'y a pas de solanine; mais après dix jours, la réaction caractéristique de ce produit deviendra de jour en jour plus intense et plus diffuse dans les tissus des différents organes. La solanine apparaît d'abord dans le point végétatif des feuilles pour se répandre ensuite dans le parenchyme entourant les faisceaux et dans le pétiole. On n'en trouve pas dans le mésophylle.

En opérant d'une façon analogue avec le tubercule de *S. tuberosum* L., on peut ainsi faire disparaître la solanine à l'obscurité et la faire réapparaître à la lumière.

Il faut donc conclure de ces expériences, que la solanine, dans les plantes qui en étaient privées parce qu'elles étaient tenues dans des conditions de non-assimilation, se régénère, lorsqu'on vient à les replacer dans des conditions normales d'air et de lumière. De plus, nous constatons que cet alcaloïde, en se reconstituant, ne se trouve pas dans le tissu assimilateur de la feuille. La lumière n'a donc qu'une action indirecte sur la présence ou l'absence de solanine, et la production de cet alcaloïde est liée aux phénomènes d'assimilation.

Telles sont, en résumé, les expériences d'ALBO; voyons maintenant la conclusion qu'en tire l'auteur. Pour lui, le fait de trouver l'alcaloïde en plus grande quantité au sommet végétatif où il persiste jusqu'à la mort de la plante, ne laisse place qu'à deux alternatives<sup>(1)</sup> :

1° Ou bien la solanine est une substance de rebut provenant, dans les graines, des échanges matériels de la plante qui lui a donné naissance, et alors on se demande pourquoi elle doit émigrer et persister, jusqu'au terme de la vie de la plante, à la seule gemmule apicale, et non rester dans les cotylédons où elle se trouve avant la germination;

2° Ou bien l'alcaloïde que l'on trouve dans l'extrémité végétative est produit par l'activité cellulaire aux dépens des albuminoïdes, et alors la réaction de la solanine ne devrait pas disparaître même si la plante s'était développée outre mesure, parce que, à la quantité initiale d'alcaloïde contenue dans les graines, s'ajouterait celle que produit l'activité cellulaire.

ALBO prétend que les expériences ne sont pas d'accord avec ces hypothèses, et la raison s'en trouve dans le fait que l'alcaloïde est réellement employé à la nutrition du germe, en se transportant des cotylédons vers les points où la consommation est plus grande.

L'auteur rejette l'hypothèse de BOUSSINGAULT, confirmée par DEHÉ-

1. G. ALBO : Alcune considerazioni sul significato fisiologica degli alcaloidi vegetali. *Nuovo Giorn. bot. ital.*, 9, 285-300, 1902.

BAIN, au sujet de la fonction physiologique de la solanine, hypothèse qui ferait remplir à cette substance un rôle analogue à celui de l'asparagine. On sait, en effet, que les végétaux, à l'époque de la germination, ont une période transitoire pendant laquelle ils se nourrissent aux dépens des substances de réserve contenues dans les graines. Les substances protéiques se scindent en formant de l'asparagine ou d'autres amino-acides, et sous cette forme, partant des cotylédons, se dirigent vers les organes en voie de croissance, où on trouve ces substances azotées jusqu'à ce que l'albumine de réserve soit épuisée. L'asparagine serait donc la forme de transport des matières albuminoïdes de réserve.

Pour ALBO, la solanine se conduirait d'une façon toute différente. Elle ne se forme pas, pendant la germination, ni dans les expériences en l'absence d'anhydride carbonique, par décomposition des matières protéiques; elle disparaît lentement au fur et à mesure que la jeune plante se développe pour enfin disparaître totalement. Ce serait donc une véritable substance nutritive, une matière de réserve qui serait décomposée à l'intérieur de l'organisme par l'action des ferments ou des acides, en donnant du sucre et une base azotée. L'alcaloïde se reconstituerait dans les plantes dès que le processus d'assimilation du carbone serait assuré d'une façon normale.

Les expériences d'ALBO ont été critiquées par CLAUTRIAU (1) qui a fait remarquer combien il était difficile de suivre les variations quantitatives d'un alcaloïde par des réactions colorées microchimiques. Il montre que l'intensité de la réaction est fonction de la concentration de l'alcaloïde, de sorte que, très forte dans les graines, pauvres en eau, elle diminuera à mesure que ces cellules vont absorber du liquide et que la plantule se développera. Les réactions microchimiques ne se produiront plus dans les cellules prises individuellement, alors que la totalité des cellules contiendra pourtant la même quantité d'alcaloïde.

D'autre part, le fait de voir disparaître l'alcaloïde aux points végétatifs, dans les expériences à l'obscurité ou en l'absence d'anhydride carbonique, ne peut guère intervenir pour faire attribuer à cette substance un rôle nutritif.

L'alcaloïde se trouve en grande abondance au point végétatif; rien d'extraordinaire à cela. C'est là que se trouve la plus grande activité cellulaire, que le métabolisme est le plus intense, et par conséquent c'est là qu'existera la plus forte proportion de déchets. Si l'alcaloïde disparaît ensuite à l'obscurité, rien ne prouve qu'il ait été assimilé; il a très bien pu être dédoublé en sucre et base alcaloïdique, et cette dernière détruite.

Lorsque les plantules étiolées sont ensuite placées dans des conditions normales et peuvent assimiler, l'alcaloïde réapparaît; mais c'est égale-

1. CLAUTRIAU : Nature et signification, *loc. cit.*, 98-100.

ment le fait de l'activité cellulaire exagérée qui, dans le travail de reconstruction, laisse encore apparaître des résidus. D'ailleurs, dans les expériences d'ALBO elles-mêmes, nous voyons que la solanine se trouve uniquement au point végétatif de la feuille et non dans le parenchyme assimilateur.

Nous nous sommes contenté d'exposer les deux théories sans les discuter; nous ferons simplement une constatation. ALBO avait déjà, d'ailleurs, fait remarquer que la solanine renfermait une bien faible proportion d'azote pour être considérée comme un produit dérivant de la décomposition des matières albuminoïdes. Elle ne pouvait en aucune façon être comparée à l'asparagine qui contient 21 p. 100 d'azote, et ALBO en tirait un argument en faveur de sa théorie de la solanine, substance nutritive de réserve.

A notre tour, constatons que la solanine se trouve en bien faible quantité dans les plantes. Si nous prenons des chiffres publiés par ALBO (1) lui-même, dans une réponse à STARKE (2), qui n'avait pu isoler ce gluco-alcaloïde d'une petite quantité de semences de Tabac, nous verrons que WACKENRODER (3) retire 0,005 de solanine de 1 kilogramme de Pomme de terre, BAUMANN (4) 0,01 de 2 kilogrammes de Pomme de terre, HAUF (5), 0,21 de 500 grammes de Pomme de terre en germination, KÖNIG (6) 0,032 à 0,068. Dans les embryons de Pomme de terre CAZENEUVE et BRETEAU ont trouvé 0,50 de solanine pour 1 kilogramme d'embryons et MEYER (7) en isole :

0,503	p. 1000	dans des pousses de . . . . .	1 cm.	de longueur.
0,273	p. 100	— — — — —	10 —	—
0,08	—	— — — — —	156 —	—

En un mot, la quantité du gluco-alcaloïde est faible dans les Pommes de terre non germées. Elle augmente durant la germination; c'est donc qu'elle n'existait qu'en petite quantité et s'est formée dès la reprise de l'activité cellulaire (8). Constatons en outre que la proportion de solanine (environ 0,50 par kilogramme dans les meilleurs rendements) est minime. Comme la solanine contient 2 p. 100 d'azote, cela fait une réserve azotée de 1 centigramme. La valeur nutritive de la solanine doit donc être faible! Un aliment? Tout au plus un dessert! dirions-nous, si nous osions nous approprier la boutade d'un physiologiste contemporain.

1. G. ALBO : Sui principi alcaloïdici dei semi di tabacco. *Bull. Soc. Bot. Ital.*, Firenze, 161-168, 1902.

2. STARKE : De la prétendue existence de solanine dans les graines de Tabac. *Bull. Ac. roy. de Belg.*, 3, 379-383, 1901; *Recueil Inst. bot.* ERREBA, 5, 295-298, 1902.

3. WACKENRODER : *Arch. d. Pharm.*, 33, 60-68, 1843.

4. BAUMANN : *Arch. d. Pharm.*, 33, 23-27, 158-167, 1843.

5. HAUF : *Jahresber. d. chem.*, 48, 817, 1865.

6. KÖNIG : *Chemie der menschlichen Nahrungsmittel*, Berlin, 704-727, 1903.

7. G. MEYER : Ueber den Gehalt der Kartoffeln an Solanin und über die Bildung während der Keimung. *Arch. f. exp. Pathol. und Pharm.*, 36, 369, 1895.

# GLUCOSIDES

## PREMIÈRE PARTIE

### LOCALISATION DES GLUCOSIDES

#### CARACTÈRES, CONSTITUTION DES GLUCOSIDES

Sous le nom de *Glucosides*, on a tout d'abord désigné un certain nombre de principes immédiats retirés des végétaux, qui, sous l'influence des acides et des enzymes, se dédoublent en *Glucose d.* et en *composés divers*.

Par extension, on a donné ce nom à des principes dont le dédoublement fournit une matière sucrée autre que le glucose. Parmi ces substances sucrées, certaines ont pu être identifiées à des sucres : pentoses, hexoses, bioses ou polyoses, déjà connus. Quelques-uns, au contraire, doivent être considérés comme des sucres nouveaux : vicianose, primevérose; enfin, dans beaucoup de cas, la nature de cette matière sucrée n'a pu être déterminée avec précision. On a pourtant conservé le nom de glucosides à ces divers principes, mais il ne faut pas, du moins pour le moment, attacher à ce mot le sens trop précis de dérivé du « glucose ». Un jour viendra, sans doute, où la connaissance de ces corps sera suffisamment étendue pour que l'on adopte une classification et une terminologie plus conformes à leur composition moléculaire.

Nous rangerons donc parmi les glucosides tous les corps qui, par hydrolyse acide ou enzymotique, donneront, à côté d'autres produits de dédoublement, un ou plusieurs hydrates de carbone. Quant aux corps combinés aux sucres, ils sont de nature chimique très variée et l'on rencontre dans leur édifice moléculaire les fonctions les plus diverses :

phénol, alcool, aldéhyde, acide. Certains contiennent de l'azote dans leurs éléments (amygdaline), d'autres du soufre (sinalbine, myronate de potassium).

Ce nom s'applique aussi très bien aux glucosides d'alcools que la synthèse chimique, et surtout biochimique, a permis d'obtenir dans ces dernières années. On voit donc quelle diversité de composition présente le groupe chimique qui nous intéresse.

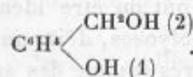
Si le nombre des corps de nature glucosidique actuellement isolés des végétaux dépasse une centaine, nous ne connaissons malheureusement la constitution que de quelques-uns. Chaque année, la littérature chimique s'augmente nominativement de plusieurs glucosides, sans que nous puissions dire que ces découvertes répétées aient fait avancer d'un pas nos connaissances fondamentales sur la question. Isoler un glucoside est chose intéressante, sans doute, mais il faut bien reconnaître l'insuffisance de définitions chimiques se résumant en une formule brute qu'établissent une combustion et une cryoscopie faite souvent dans des conditions désavantageuses (à cause de la petite quantité de produit obtenu).

C'est qu'en effet, nous ne pourrions connaître avec certitude la genèse et le rôle des glucosides que lorsque notre connaissance de leur constitution sera plus avancée.

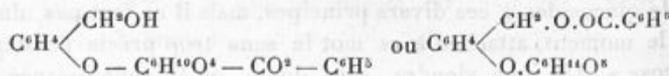
Dans ce qui suit, nous avons réuni, à dessein, la plupart des glucosides connus et les avons classés, d'après la nature de leurs produits de dédoublement (\*).

1° *Glucosides donnant par dédoublement des produits connus à noyau aromatique* (\*\*).

*Salicine* : Glucose + *Saligénine* (alcool orthoxybenzylique) :



*Populine* (*benzoylsalicine*) : Glucose + *Benzoylsaligénine* :

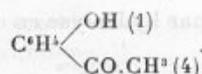


1. Nous ne comprenons pas dans ce nombre les glucosides synthétiques obtenus par BOURQUELOT et ses élèves. Aucun de ces glucosides obtenus par voie biochimique n'a encore été signalé dans les végétaux. Toutefois, il semble que la combinaison obtenue par union du géranol au glucose existe dans certains *Geranium* (BOURQUELOT).

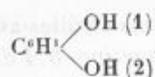
2. Dans ce premier groupe, nous avons rapproché les uns des autres les glucosides qui présentent entre eux des relations chimiques, sans nous occuper de l'ordre botanique.

Dans la première formule, l'acide benzoïque étherifie une des fonctions alcooliques de la molécule glucosique de la salicine; c'est donc une sorte de double glucoside, car si la scission se produisait de façon à ne mettre en liberté que la saligénine, on devrait obtenir un glucoside de l'acide benzoïque.

*Picéine* : Glucose + *Picéol* (*paraoxyacétophénone*) :

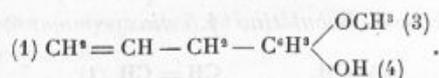


*Arbutine* : Glucose + *Hydroquinone* :

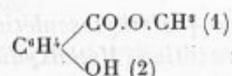


*Méthylarbutine* : Glucose + *Méthylhydroquinone*.

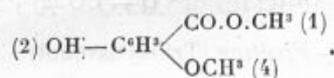
*Géine* : Glucose + *Eugénol* (*éther méthylique de l'allylpyrocatechine*) :



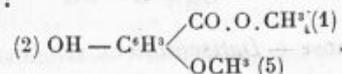
*Gaulthérine* : Glucose + *Salicylate de méthyle* :



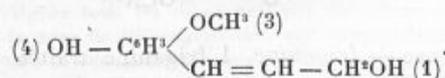
*Primevérine* : *Primevérose* + *Ether méthylique de l'acide β-méthoxyrésorcyclique* :



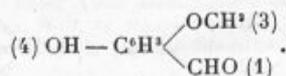
*Primulavérine* : *Primevérose* + *Ether méthylique de l'acide méta-méthoxysalicylique* :



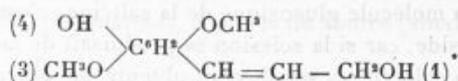
*Coniférine* : Glucose + *Alcool coniférylique* :



*Glucovanilline* : Glucose + *Vanilline* :

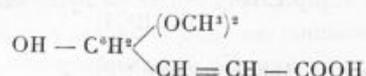


*Syringine* : Glucose + *Syringénine* (alcool méthoxyconiférylique) :



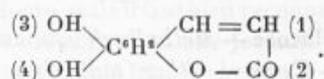
*Sinalbine* : Glucose + *Isosulfocyanate d'orthoxybenzyle* + *Sulfate acide de Sinapine*.

La sinapine se dédouble par hydrolyse en choline et acide sinapique :

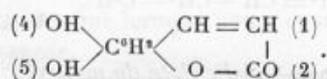


ce dernier présente des relations étroites avec la syringénine.

*Daphnine* : Glucose + *Daphnéine* (3.4 dioxycoumarine) :

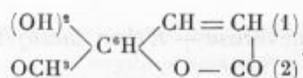


*Esculine* : Glucose + *Esculéine* (4.5 dioxycoumarine) :

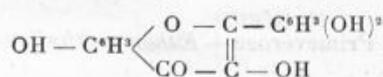


*Méthylesculine* : Glucose + *Méthylesculéine*.

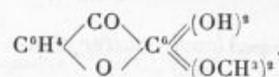
*Fraxine* : Glucose + *Fraxétine* (Méthoxydioxycoumarine) :



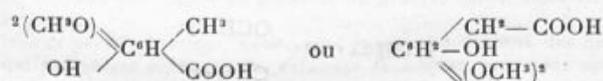
*Fustine* : Glucose + *Fisétine* (Trioxylavonol) :



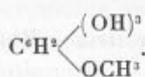
*Datiscine* : Rhamnose + *Datiscétine* :



*Iridine* : Glucose + *Irigénine*. L'Irigénine traitée par la potasse donne de l'acide formique, de l'acide iridique (éther-acide-phénol-homodiméthylgallique) :



et de l'*Irétol* (*méthoxytrioxybenzol*) :

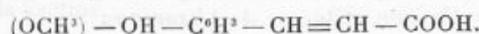


Citons maintenant les glucosides qui renferment le noyau de la phloroglucine. Ces glucosides se dédoublent en donnant un sucre et un *phloroglucide* résultant de combinaison entre la phloroglucine et un autre composé de nature phénolique (1).

*Hespéridine* : Glucose + *Hespéretine*. Cette dernière, par ébullition avec la potasse, donne de la *phloroglucine* :



et de l'*acide isoférule* :

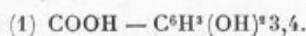


*Diosmine* : Sucre (2) et composé voisin de l'*Hespéretine*.

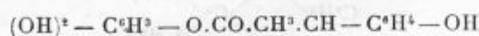
*Apiine* : Glucose + *Apigénine* qui, par ébullition avec la potasse, donne de la *phloroglucine* :



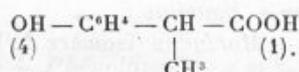
et de l'*acide protocatéchique* :



*Phloridzine* : Glucose + *Phlorétine* ou *phloroglucine phlorétique* :



se dédouble en *phloroglucine* et *acide phlorétique* ou *acide paroxyhydratropique* :



*Glycyphylline* : Rhamnose + *Phlorétine*.

*Quercitrine* : Rhamnose + *Quercétine* ou *Tétraoxyflavonol*, qui,

1. On pourrait désigner tous les corps qui, par dédoublement, donnent de la phloroglucine, sous le nom de *Phloroglucoïdes*, qui comprendraient les *Phloroglucoïdes* (*Hespéretine*, etc.) et les *Phloroglucosides* (*Hespéridine*). Cette terminologie aurait l'avantage de concorder avec celle que nous avons donnée pour les substances tanniques. Aux *Tannoïdes* correspondraient les *Phloroglucoïdes*; aux *Tannosides* correspondraient les *Phloroglucosides* et aux *Tannides* les *Phloroglucoïdes*.

EM. PERRON et A. GORIS. Essai d'une terminologie des corps désignés généralement sous le nom de Tanins. *Bull. Sc. Pharm.*, 16, 189-191, 1909.

(2) Lorsque l'hydrate de carbone n'a pas été identifié, nous le désignons par le mot « Sucre ».

oxydé par la potasse, donne finalement de la *phloroglucine* et de l'*acide protocatéchiq*ue.

*Rutine* : Isomère de la *Quercitrine* : Rhamnose + *Quercétine*.

*Violaquercitrine* : Glucose + *Quercétine*.

*Lokaïne* : Lokaose + *Acide lokanique*. Ce dernier, par ébullition avec la potasse, donne *phloroglucine* et *acide délokanique* :  $C^{14}H^{10}O^6$ .

*Naringine* (*Aurantine*) : Glucose + *Naringénine*, qui donne par dédoublement : *phloroglucine* et *acide paracoumarique*.

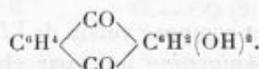
*Cocacétine* : Cocaose + *Cocacétine* qui, fondue avec la potasse, donne *Phloroglucine* et *acide protocatéchiq*ue.

*Cocafflavine* : Glucose + Galactose + *Cocaffavétine*.

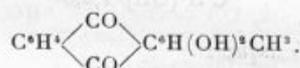
*Xanthorhamnine* : Rhamnose + *Rhamnétine* ou *diméthylquercétine*.

Dans le groupe des glucosides anthraquinoniques, nous trouvons :

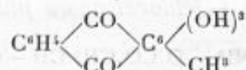
*Acide rubérythrique* : Glucose + *Alizarine* :



*Glucoside de la rubiadine* : Glucose + *Rubiadine* :



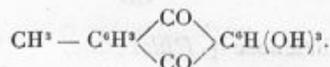
*Franguline* : Rhamnose + *Emodine* :



*Aloïne* : *Arabinose-d.* + *Emodine*.

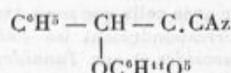
*Polygonine* : Glucose + *Emodine* :

*Morindine* : Hexose + *Morindon* (isomère de l'*Emodine*) :



Les glucosides cyanhydriques eux-mêmes possèdent un noyau phénolique.

L'*Amygdalonitrilglucoside*, la *Prulaurasine*, la *Sambunigrine* :

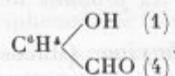


donnent par dédoublement de l'acide cyanhydrique, du glucose et de l'aldéhyde benzoïque. On peut les considérer, comme dérivant des *acides*

*phénylglycoliques*  $C^6H^5.CHOH.CO_2H$ , gauche, droit et racémique.

L'*Amygdaline* et l'*Isoamygdaline* ont une constitution analogue ; ils dérivent également des acides phénylglycoliques gauche et racémique, mais donnent par dédoublement deux molécules de glucose, ou un biose non encore isolé (*Amygdalose*) résultant de la combinaison des deux molécules de glucose.

*Dhurrine* : Glucose + Acide cyanhydrique + Aldéhyde paraoxybenzoïque :



*Vicianine* : Vicianose + Acide cyanhydrique + Aldéhyde benzoïque.

*Lotusine* : Glucose + Acide cyanhydrique + Lotoflavine  $C^{13}H^{10}O^4$  isomère de la fisétine.

La *Linamarine* (*phaséolunatine*) ne donne pas de composé phénolique, mais simplement du glucose, de l'Acide cyanhydrique et de l'Acétone. Il en est de même de la *Gynocardine* qui, par dédoublement, donne de la *trihydroxycétone*.

Les glucosides suivants sont beaucoup moins connus, mais la nature phénolique du composé de dédoublement ne fait encore aucun doute.

*Murrayine* : Glucose + *Murrayétine*.  $C^{12}H^{12}O^3$  composé de fonction phénolique, colorable en bleu par le perchlorure de fer.

*Skimmine* : Sucre + *Skimmétine*  $C^8H^6O^3$  se colore en bleu par le perchlorure de fer.

*Ményanthine* : Glucose + *Ményanthol*, composé huileux à caractères phénoliques.

*Gentiopicrocine* : Glucose + *Gentiogénine*  $C^{14}H^{14}O^5$ , également à fonction phénolique.

*Gentiine* : Hexose + Xylose + *Gentiénine*.

*Aucubine* : Glucose + *Aucubigénine*.

*Linarine* : Sucre + *Phénollinarine*  $\alpha$  et  $\beta$ .

*Pectolarine* : Sucre + *Phénolanhydrolinarine*  $\alpha$  et  $\beta$ .

2° *Glucosides donnant par dédoublement des produits connus, mais ne possédant pas de noyau aromatique.*

*Picrocrocine* : Glucose + *Terpène*.

*Myronate de Potasse* : Glucose + Bisulfate de potasse + Isosulfocyanate d'allyle.

*Glucosides des Geranium* : Glucose + *Géraniol*.

*Convolvuline* : Glucose + *Convolvulinol* ou acide *convolvulinolique* (acide gras).

*Jalapine (Scammonine)* : Scammonose + *Jalapinol* ou acide *Jalapinique* (acide gras).

*Turpéthine* : Glucose + *Turpéthol* ou acide *turpétholique* (acide gras)

*Ipoméine* : Scammonose + *Ipoméol* ou acide *Ipoméolique* (acide gras).

*Tampicine* : Glucose + *Tampicol* ou acide *Tampicolique* (acide gras).

3° *Glucosides dont nous ne connaissons pas, ou dont nous ne connaissons qu'imparfaitement les produits de dédoublement* (1).

*Toxicatine* : Glucose + *Thuyine* : Glucose + *Thuyétine* C<sup>14</sup>H<sup>14</sup>O<sup>8</sup>.

*Pinipikrine* : Glucose + *Ericinol* C<sup>19</sup>H<sup>16</sup>O.

*Convallamarine* : Sucre + *Convallamarétine* C<sup>29</sup>H<sup>30</sup>O<sup>8</sup>.

*Convallarine* : Sucre + *Convallarétine*.

*Crocine* : Crocose + *Crocétine* C<sup>23</sup>H<sup>16</sup>O<sup>8</sup>.

*Antiarine* : Antiarose + *Antiarigénine* C<sup>21</sup>H<sup>20</sup>O<sup>8</sup>.

*Helléborine* : Glucose + *Helléborésine* C<sup>29</sup>H<sup>28</sup>O<sup>4</sup> (?).

*Helléboréine* : Glucose + *Helléborétine* C<sup>14</sup>H<sup>20</sup>O<sup>8</sup>.

*Ononine* : Glucose + *Formonétine* C<sup>24</sup>H<sup>20</sup>O<sup>8</sup> se dédoublant à son tour en acide formique et ononétine.

*Hédérine* : Hédérose + *Hédérétine* C<sup>29</sup>H<sup>42</sup>O<sup>8</sup>.

*Asebotine* : Glucose + *Asebogénine* C<sup>14</sup>H<sup>14</sup>O<sup>7</sup>.

*Méliatine* : Glucose d. + Corps peu connu C<sup>9</sup>H<sup>12</sup>O<sup>4</sup>.

*Strophanthine* : Strophanthobiose + *Strophanthidine*.

*Périplocine* : Glucose + *Périplogénine* C<sup>24</sup>H<sup>24</sup>O<sup>8</sup>.

*Dulcamarine* : Glucose + *Dulcamarétine* C<sup>16</sup>H<sup>20</sup>O<sup>8</sup>.

*Digitoxine* : Digitoxose + *Digitoxigénine* C<sup>22</sup>H<sup>32</sup>O<sup>4</sup>.

*Globularine* : Glucose + *Globularétine* C<sup>9</sup>H<sup>6</sup>O.

*Danoïne* : Sucre + *Danoïdine* C<sup>23</sup>H<sup>20</sup>O<sup>6</sup>.

*Caïcine* : Sucre + *Caïnéine* C<sup>22</sup>H<sup>24</sup>O<sup>8</sup>.

*Chicoréine* : Sucre + *Chicoréigénine* C<sup>20</sup>H<sup>14</sup>O<sup>9</sup>.

Enfin, les glucosides dont nous ne connaissons guère que le nom : *Scillaïne*, *Smilacine*, *Boldine*, *Coriamyrtine*, *Lupinine*, *Ericoline*, *Loganine*, *Gymnémine*, *Thévétine*, *Nériine*, *Oléandrine*, *Cerbérine*, *Bryonine*, *Colocynthine*, *Munjistine*, *Vernonine*, *Absinthiine*, *Achilléine*, *Rhinanthine*, *Thanghinine*, etc., etc.

Nous pouvons donc dire que les corps qui sont combinés au glucose ou aux matières sucrées pour former les glucosides appartiennent aux différentes fonctions chimiques. Nous y trouvons des carbures terpéniques (picrococine), des alcools (glucoside des *Geranium*), des acides (jalapine, convolvuline), des cétones (linamarine), mais la majorité des

1. Nous rangerons ces corps d'après l'ordre des familles botaniques adopté par BENTHAM et HOOKER.

glucosides renferme des corps de la série aromatique. Ce sont presque toujours des phénols à fonction complexe ou des polyphénols, rarement des phénols simples.

Les diphénols : hydroquinone, résorcine, et pyrocatechine sont tous représentés, et nous pouvons dire que dans ces composés, les fonctions phénoliques (excepté celles liées au sucre) sont presque toujours méthylées. Les corps qui en dérivent sont odorants et constituent dans certains cas les essences que l'on rencontre chez les végétaux.

La phloroglucine est le triphénol que l'on rencontre le plus; elle est très souvent combinée avec l'acide protocatechique ou d'autres composés phénoliques plus complexes. Ces glucosides à base de phloroglucine, lorsqu'ils sont dédoublés, s'oxydent facilement. Ils nous conduisent insensiblement aux glucosides tanniques qui, par dédoublement et oxydation, produisent les tanins et les phlobaphènes.

Nous ferons ressortir l'importance de ces faits lorsque nous envisagerons le rôle des glucosides dans les végétaux.

## LOCALISATION DES GLUCOSIDES

## § I. — HISTORIQUE

Les recherches sur la localisation des glucosides ont été poursuivies parallèlement à celles sur les alcaloïdes.

Le travail de BORSCHOW<sup>(1)</sup>, cité à propos des alcaloïdes et en particulier de la *Vératrine*, avait surtout pour but la recherche des glucosides. Cet auteur étudia, en effet, la localisation de la *Syringine*, de la *Franguline* et des glucosides qui fournissent par dédoublement de l'*Acide Chrysophanique*, ou des *Oxyméthylantraquinones*. Ce furent les premières recherches sur la localisation des glucosides.

La même année (1874) PFEFFER<sup>(2)</sup> publia quelques résultats, d'ailleurs incomplets, sur la localisation de l'*Hesperidine*. OTTOMAR HERMANN<sup>(3)</sup> (1876) fit avec soin la localisation de la *Rutine*, de la *Phloridzine* et de la *Datisçine*.

MACQRET<sup>(4)</sup> (1888), sous la direction de GUIGNARD, fit une localisation, depuis devenue classique, de l'*Aloïne* dans les feuilles d'Aloès.

Vers la même époque, il faut citer les recherches de MOLISCH sur la *Crocine*, de MOLISCH<sup>(5)</sup>, de DE WÈVRE<sup>(6)</sup> et de HÖHNEL<sup>(7)</sup> sur la *Coniférine*. Les conclusions relatives à ce dernier glucoside mériteraient, d'ailleurs, d'être vérifiées.

1. BORSCHOW : Beiträge zur Histochemie der Pflanze. *Bot. Zeit.*, **32**, 17-25, 33-40, 1874.

2. PFEFFER : Hesperidin, ein Bestandtheil einiger Hesperideen. *Bot. Zeit.*, **32**, 529-539, 1874.

3. OTTOMAR HERMANN : Nachweis organ. Verbindungen in vegetabil. Geweben. *Dissert.* Leipzig, 1876.

4. MACQRET : Étude sur l'Aloès. *Th. Pharm.*, Paris, 1888.

5. MOLISCH : Grundriss einer Histochemie der pflanzlichen Genussmittel, 65 p., in-8°. Léna, 55, 1891. — Ein neues Coniferinreagens. *Ber. d. deutsch. bot. Gesell.*, **301**, 1886.

6. DE WÈVRE : La lignine. *Bull. Soc. belge de Microsc.*, **15**, 49-54, 1889.

7. V. HÖHNEL : Histochemische Untersuchungen über das Xylophillin und das Coniferin. *Sitzungsber. d. k. Akad. der Wiss. Wien*, **76**, 663, 1877.

ROSOLL<sup>(1)</sup>, en 1889, étudia la localisation de la *Salicine*, étude que nous avons reprise dans ces dernières années.

HARTWICH<sup>(2)</sup> indiqua une méthode permettant de rechercher la *Strophanthine* dans les *Strophanthus*, et PLANCHON<sup>(3)</sup>, puis V. PAYRAU<sup>(4)</sup> généralisèrent cette méthode pour distinguer les graines de *Strophanthus* à *Strophanthine*, d'avec celles qui renferment de l'*Ouabaïne*.

Les travaux concernant la localisation des principes actifs dans les Crucifères datent de 1890. GUIGNARD<sup>(5)</sup> y indique la localisation du glucoside, *Myronate de potasse*; mais ils ont surtout trait, ainsi que ceux qui leur font suite, à la localisation du ferment, *Myrosine*.

En 1893, L. BRÆMER<sup>(6)</sup> étudia la répartition des glucosides (*Coccythine*, *Bryonine*, *Elatéride*) dans les Cucurbitacées. La même année, VILLENEUVE<sup>(7)</sup> fit quelques remarques concernant la *Coryamyrine*.

L. SAUVAN<sup>(8)</sup> (1896), dont nous avons déjà signalé les travaux sur les alcaloïdes, étudia également la répartition des glucosides *Helléborine* et *Helléboréine* dans le genre *Helleborus*, et de la *Daphnine* dans les *Daphne*.

De la même époque sont les belles recherches de TREUB<sup>(9)</sup> sur la

1. ROSOLL : Ueber den mikrochem. Nachweis der Glycoside and Alkaloide in den veget. Geweben. *Jahresb. der niederöster Landes-Realgymnasiums zu Stockerau*, Stockerau, 25, 1889-1890.

2. HARTWICH : Beitrag zur Kenntniss der Strophanthussamen. *Arch. d. Pharm.*, 230, 411, 1892.

3. L. PLANCHON : Produits fournis à la matière médicale par la famille des Apocynées, Montpellier, 1894.

4. V. PAYRAU : Recherches sur les *Strophanthus*. *Th. Pharm.*, Paris, 1900.

5. L. GUIGNARD : Recherches sur la localisation des principes actifs des Crucifères. *Journ. Bot.*, 4, 385-394, 412-430, 435-455, 1890. — Sur la localisation dans les Amandes et le Laurier-cerise des principes qui fournissent l'acide cyanhydrique. *Journ. de Pharm. et Chim.* (5s.), 21, 233-236, 289-303, 1890. — Recherches sur la nature et la localisation des principes actifs chez les Capparidées, Tropéolées, Limnanthées, Résédacées, Papayacées. *Journ. Bot.*, 7, 345-364, 393-408, 417-426, 444-460, 1893. — Sur l'existence et la localisation de l'émulsine dans les plantes du genre *Manihot*. *Bull. Soc. Bot.*, 41, CIII-CVII, 1894. — Recherches sur certains principes encore inconnus chez les Papayacées. *Journ. Bot.*, 8, 67-79, 85-92, 1894.

6. L. BRÆMER : De la localisation des principes actifs des Cucurbitacées. *C. R. Ac. Sc.*, 447, 753, 1893. — De la localisation des principes actifs des Cucurbitacées. Recherches histologiques et histochimiques. Toulouse, 1893.

7. VILLENEUVE : Étude sur le Redoul (*Coriaria myrtifolia*). *Th. pharm.*, Montpellier, 1893.

8. L. SAUVAN : Localisation des principes actifs dans les végétaux. *Journ. Bot.* 10, 126-132, 133-140, 157-162, 1896. — Recherches sur la localisation de la Daphnine dans le *Daphne alpina* et *D. Gnidium*. *Journ. Pharm. Chim.* (6s.), 3, 443-445, 1896.

9. TREUB : Sur la localisation, le transport et le rôle de l'acide cyanhydrique dans le *Pangium edule* Reinw. *Ann. Jard. bot. Buitenzorg*, 43, 89, 1896. — Nouvelles recherches sur le rôle de l'acide cyanhydrique dans les plantes vertes. *Ann. Jard. bot. Buitenzorg* (2s.), 4, 86-146, 1904. — Nouvelles recherches sur le rôle de l'acide cyanhydrique dans les plantes vertes. *Ann. Jard. bot. Buitenzorg* (2s.), 6, 79, 1907. — Nouvelles recherches sur le rôle de l'acide cyanhydrique dans les plantes vertes. *Ann. Jard. bot. Buitenzorg* (2s.), 8, 85, 1909.

répartition de l'acide cyanhydrique dans le *Pangium edule* Reinw. La méthode de localisation imaginée pour ce principe azoté fut ensuite appliquée à la recherche des *glucosides cyanogénétiques*.

W. RUSSELL (\*) (1902) reprend la recherche microchimique de la *Daphnine* dans le *Daphne Laureola* L.

En 1903, nous avons publié un travail sur la localisation et la répartition de l'*Esculine* dans le Marronnier (\*\*), sur la localisation de la *Fraxine*, de la *Daphnine*, de la *Salicine* et de la *Fustine*; l'année suivante, CHEMINEAU (\*\*), travaillant sous notre direction, aborda la recherche microchimique de l'*acide Rubérythrique* et de l'*Arbutine*.

TUNMANN (\*\*), qui n'eut certainement pas connaissance de ce travail, reprit la localisation de l'*Arbutine* dans l'*Uva-ursi* et arriva aux mêmes conclusions que CHEMINEAU.

Plus récemment, en collaboration avec CRÉTÉ (\*\*), nous avons étudié la localisation de la *Polygonine* dans le *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. et vérifié les résultats de BERTHIER (\*\*), en ce qui concerne la *Rhéopurgarine*.

En 1907, GRÉS (\*\*) entreprit la recherche microchimique de la *Fran-guline*, de la *Xanthorhamnine* et de la *Lokaïne* dans le genre *Rhamnus*.

Pour terminer, signalons les travaux de VANDERLINDEN (\*\*\*) (1901) sur la recherche des glucosides dans les Renonculacées, de RUSSELL (\*\*) (1905) sur l'*acide Rubérythrique* et l'*acide Chlorogénique*, et enfin de MIÈGE (\*\*\*\*) (1910) sur la localisation de la *Rutine* dans le *Fagopyrum esculentum* Moench.

Les *Saponines*, qui constituent un groupe spécial de glucosides, ont

1. W. RUSSELL : Essai sur la localisation de la *Daphnine* dans le *Daphne Laureola*. *Rev. gén. de Bot.*, **14**, 420-426, 1902.

2. A. GORIS : Recherches microchimiques sur quelques glucosides et quelques tanins végétaux. *Th. Doct. Sc.*, Paris, 1903.

3. R. CHEMINEAU : Recherches microchimiques sur quelques glucosides. *Th. Doct. Un. Pharm.*, Paris, 1904.

4. O. TUNMANN : Über folia *Uva-ursi* und den mikrochemischen Nachweis des Arbutins. *Pharm. Centralh.*, **47**, 945, 1906.

5. A. GORIS et CRÉTÉ : Sur la valeur purgative du *Polygonum cuspidatum*. Sieb. et Zucc. *Bull. Sc. Pharm.*, **14**, 698-703, 1907. La Rhubarbe de Chine. *Bull. Sc. Pharm.*, **14**, 93-104, 1907.

6. BERTHIER : Des produits fournis à la Matière Médicale par les genres *Rumex* et *Rheum*. (Manuscrit déposé à la Bibliothèque de l'Ecole de Pharmacie, prix MENIER), 1899.

7. GRÉS : Contribution à l'étude anatomique et microchimique des Rhamnées. *Th. Doct. Un. Pharm.*, Paris, 1901.

8. VANDERLINDEN : Recherches microchimiques sur la présence des alcaloïdes et des glucosides dans la famille des Renonculacées. *Ann. Soc. roy. des Sc. méd. et nat. de Bruxelles*, **10**, fas. I, 50 p., 2 pl. col., 1901.

9. RUSSELL : Recherches expérimentales sur les principes actifs de la Garance. *Rev. gén. Bot.*, **17**, 254-259, 1905.

10. MIÈGE : Recherches sur les principales espèces de *Fagopyrum*. *Th. Doct., Sc.* Paris, 574-581, 1910.

fait l'objet de quelques travaux, de la part de ROSOLL <sup>(1)</sup>, KOBERT <sup>(2)</sup>, HOFFMANN <sup>(3)</sup>, HANAUSECK <sup>(4)</sup>, BEULAYGUE <sup>(5)</sup>. On n'obtient pas de résultats aussi précis et aussi nets que pour la localisation des alcaloïdes et des glucosides. COMBES <sup>(6)</sup> et M<sup>me</sup> DUCHER <sup>(7)</sup>, qui se sont tous deux adonnés à la recherche microchimique des saponines, ont pu dire, avec juste raison, que les résultats obtenus consistaient dans la caractérisation microchimique de ces composés, plutôt que dans la connaissance exacte des éléments qui les renferment.

## § II. — MÉTHODES GÉNÉRALES DE LOCALISATION DES GLUCOSIDES.

Nous avons vu que les alcaloïdes jouissaient de propriétés générales soit de précipitation, soit de coloration, sous l'action des réactifs oxydants, qui permettaient d'établir des méthodes générales de localisation de ces principes.

Les glucosides sont moins bien favorisés sous ce rapport. Leurs propriétés générales ne peuvent être mises à profit en microchimie et nous sommes obligés d'avoir recours, le plus souvent, à des réactions tout à fait spéciales à chacun d'eux.

Parfois, un réactif peut servir à plusieurs glucosides, lorsque ces derniers ont une constitution identique (*Esculine, Fustine, Fraxine*), mais l'étude chimique de ces corps est encore trop peu avancée pour que nous puissions établir des réactions qui grouperaient tous les glucosides ayant une formule identique. Les méthodes employées seront surtout des méthodes de coloration.

Toutefois, TREUB a donné une méthode générale pour la localisation des glucosides cyanogénétiques, dans laquelle on provoque la formation

1. ROSOLL : Ueber den mikrochem. Nachweis der Glycoside und Alkaloide in den veget. Geweben. 25 Jahresb. des Landes-Realgymnasiums zu Stockerau. Stockerau, 1889-1890.

2. KOBERT : Beiträge zur Kenntnis der Saponin Substanz. Arch. f. exp. Pathol., 23, 233, 1887.

3. HOFFMANN : Ueber die Quillajasäure. Ber. chem. Gesell., 36, 2722, 1903.

4. HANAUSECK : Ueber den Sitz der Saponin Substanz in den Kornradesamen. Chem. Zeit., 16, 1643-1892.

5. BEULAYGUE : Du *Sapindus utilis* et des différentes saponines. Th. pharm., Montpellier, 1896.

6. R. COMBES : Etude botanique des plantes à saponine. (Manuscrit pour le prix MENIER, déposé à la Bibliothèque de l'Ecole de Pharmacie de Paris), 1906. — Sur une méthode générale de recherches microchimiques et son application à l'étude de la répartition des saponines chez les végétaux. C. R. Ac. Sc., 145, 1431, 1907.

7. M<sup>me</sup> DUCHER : Etude botanique des plantes à saponine. (Manuscrit pour le prix MENIER, déposé à la Bibliothèque de l'Ecole de Pharmacie de Paris), 1906.

d'un précipité de bleu de Prusse dans les cellules renfermant le glucoside, après que celui-ci a été dédoublé par le ferment de la plante. C'est, en réalité, un procédé qui permet de se rendre compte de la répartition de ces glucosides dans un organe entier, feuille, fleur, et de suivre la variation de ce principe dans des végétaux en expérimentation, cultivés dans des conditions particulières.

Un procédé de précipitation au moyen de l'alcool a également été employé par PFEFFER, pour la localisation de l'hésperidine, et par CHEMINEAU pour les matières colorantes de la Garance. Mais ce sont là des cas tout à fait particuliers, car, le plus souvent, les glucosides sont solubles dans l'alcool.

Les méthodes de coloration sont donc celles qui ont donné jusqu'à ce jour les meilleurs résultats.

Les réactifs employés sont : soit des *acides concentrés* (acide sulfurique, acides chlorhydrique et azotique), *purs* ou *additionnés de sels* leur communiquant des propriétés oxydantes (acide sélénieux, bichromate de potassium, etc.); soit des *solutions alcalines* (eaux de baryte, de chaux, solution de potasse, d'ammoniaque ou de carbonate de sodium) qui colorent beaucoup de glucosides en jaune ou en rouge.

Pour les réactifs à base d'acide sulfurique, nous ferons la même remarque qu'à propos des alcaloïdes. Il ne faut pas songer à obtenir de bons résultats avec un acide sulfurique concentré, mais dès que cet acide correspond à la formule  $SO^4H^2 + H^2O$ , on peut obtenir des résultats intéressants et qui permettent de suivre sous le microscope les réactions de coloration dans les cellules.

Les réactifs à base d'oxydes alcalins ou alcalino-terreux seront employés à des dilutions plus ou moins grandes. On peut établir une gamme de ces solutions, allant depuis celle du carbonate de sodium, à réaction alcaline faible, jusqu'aux solutions de potasse assez concentrées.

Quelques artifices, suggérés par la pratique, nous ont permis d'obtenir parfois des résultats plus satisfaisants qu'en opérant dans les conditions ordinaires.

C'est ainsi qu'au lieu de faire agir les réactifs sur les coupes du végétal fraîchement récolté, il y a parfois intérêt à attendre quelques heures avant de faire l'expérience. L'organe détaché de la plante (feuille, rameau, etc.) continue à vivre; la transpiration se poursuit, mais, le végétal ne pouvant réparer ses pertes en eau, le suc cellulaire se concentre. Lorsqu'on fera les coupes dans un semblable tissu, il y aura par conséquent moins de suc cellulaire et, par suite, de glucoside, répandu sur la préparation. Les réactions seront moins diffuses, elles seront plus nettes dans les cellules, puisqu'en réalité cette technique aura finalement augmenté la concentration en glucoside du suc cellulaire.

Il faut toutefois éviter de garder trop longtemps l'organe végétatif ainsi détaché, car la mort des cellules pourrait amener des modifications dans la composition chimique de la plante; dans la plupart des cas, quelques heures suffisent. Ce laps de temps varie d'ailleurs avec chaque plante, mais la pratique a vite fait de renseigner sur la conduite à tenir.

Une autre technique permet également d'obtenir de bonnes préparations et de suivre très facilement la localisation. Elle consiste à plasmolyser les cellules par une solution saline, de concentration supérieure à la solution isotonique. En opérant de cette façon, la vésicule cellulaire se détache de la membrane, et, si elle est un peu colorée, on la voit parfaitement bien au milieu de la cellule. Fait-on agir alors, latéralement, sous la lamelle, un réactif qui colorera le glucoside (solution alcaline, solution sulfurique), on suit très facilement la réaction sous le microscope. On peut employer comme solutions hypertoniques les solutions de chlorure de sodium à 5 p. 100, d'azotate de potassium à 5 p. 100, de chlorhydrate d'ammoniaque, de glucose, etc. (1).

Enfin, sur des coupes ainsi traitées, on peut avec avantage faire agir les *vapeurs d'ammoniaque* qui colorent certains glucosides en rouge (glucosides anthraquinoniques).

CHEMINEAU emploie le procédé suivant : on dispose sous le microscope une cellule à culture, employée en bactériologie, dans laquelle on a mis une goutte d'ammoniaque. On recouvre cette cellule avec la lame à la surface de laquelle est placée la coupe à étudier. On obtient ainsi de très bons résultats. On examine naturellement la préparation à travers l'épaisseur de la lame, puisque la préparation est tournée vers le fond de la cellule bactériologique.

SOUÈGES (2) a indiqué de son côté un dispositif ingénieux et très facile à réaliser pour la localisation des glucosides anthraquinoniques dans les échantillons secs des droguiers : on prend une boîte de PÉTRI, et, dans son intérieur, on place un verre de montre renversé. On verse quelques centimètres cubes d'ammoniaque dans la boîte, juste assez pour recouvrir le fond. On fait des coupes dans l'échantillon à étudier, on les dépose sur une lame porte-objet et on dispose celle-ci sur le fond du verre de montre. On couvre la boîte de PÉTRI avec son couvercle et on laisse les coupes deux, trois, cinq minutes dans l'atmosphère de gaz ammoniac. Les coupes sont alors montées dans une goutte d'huile de vaseline. Les préparations ainsi obtenues présentent une coloration rouge très foncée dans les cellules renfermant les glucosides anthraqui-

1. On pourrait même monter la préparation dans une goutte de la solution hypertonique qui a servi à contracter les vésicules cellulaires.

2. R. SOUÈGES : Emploi des réactifs gazeux pour la caractérisation des principes actifs dans les drogues. *Bull. Sc. Pharm.*, **48**, 527, 1911.

noniques. La coloration se trouve parfaitement délimitée et ne s'étend pas aux cellules voisines.

En réalité, les méthodes de localisation varient avec chaque glucoside, c'est par une série de tâtonnements, de modifications, laissés à la sagacité du chercheur, que l'on peut arriver à un résultat satisfaisant.

Toutefois, il faut dire que les résultats donnés par certains glucosides sont aussi nets que ceux fournis par la localisation des alcaloïdes, et, personnellement, nous pouvons affirmer que dans la localisation de l'esculine nous avons eu des préparations d'une très grande netteté; elles sont plus difficiles à obtenir, leur réussite dépend d'un certain nombre de facteurs qui parfois nous échappent, mais les conclusions basées sur des préparations bien réussies et bien choisies sont tout aussi rigoureuses que celles tirées de la précipitation des alcaloïdes par l'iodure de potassium iodé.

### III

## LOCALISATION ET RÉPARTITION DES GLUCOSIDES DANS LES DIVERSES FAMILLES

### A. — Glucosides non azotés.

#### CONIFÈRES

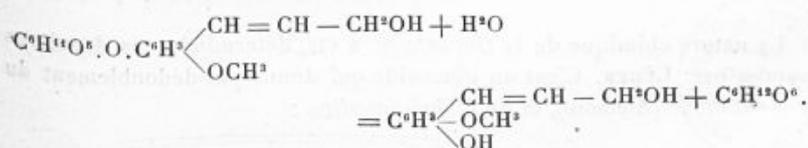
##### Coniférine.

La *Coniférine* est un glucoside extrait par HARTIG du *Larix europaea* DC. mais qui, depuis, a été retrouvé dans toutes les Conifères, l'Asperge, les racines de *Scorzonera* et aussi dans toutes les plantes à tissus lignifiés.

Elle porte encore les noms de *Laricine* et d'*Abiétine*.

Sa formule est  $C^{14}H^{20}O^8$ ; son point de fusion est  $185^{\circ}$ .

C'est un corps cristallisé en aiguilles incolores, peu soluble dans l'eau froide, plus soluble dans l'eau chaude et l'alcool, insoluble dans l'éther. Elle se dédouble en *Glucose* et *alcool Coniférylique* :



La coniférine imprègne les membranes ligneuses, qui, d'après les recherches de SINGER, WIESNER, seraient composées en grande partie de coniférine, de vanilline et d'un autre corps mal défini.

**Caractères microchimiques.** — Les réactions spéciales à la coniférine et qui permettent de vérifier sa présence ont été données, pour la plupart, par DE WÈVRE (1).

1° La *phloroglucine* et l'*acide chlorhydrique* : coloration violette fugace (DE WÈVRE).

1. DE WÈVRE : La lignine. *Bull. Soc. belg. Microsc.*, 15, 49-54; 1889.

2° Le sulfate d'aniline ou le chlorhydrate d'aniline en solution aqueuse nouvellement préparée : coloration jaune pâle (DE WÈVRE).

3° L'acide sulfurique : coloration violette (DE WÈVRE).

4° L'acide pyrogallique ou l'orcine additionnés d'acide sulfurique : coloration violette (DE WÈVRE).

5° La résorcine en solution alcoolique et l'acide sulfurique : coloration bleue (DE WÈVRE).

6° Le phénol en solution concentrée et l'acide chlorhydrique : coloration bleue (HÉGLER).

7° A une solution de thymol à 20 p. 100 dans l'alcool absolu on ajoute de l'eau jusqu'à commencement de précipitation, et ensuite du chlorate de potasse cristallisé en excès; on laisse en contact quelques heures et on filtre. Les préparations sont humectées avec cette solution et on fait arriver de l'acide chlorhydrique concentré sous la lamelle. La coniférine provoque une coloration vert intense [MOLISCH] (1).

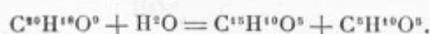
**Répartition de la Coniférine.** — Au moyen de ces réactifs, DE WÈVRE, MOLISCH ont pu montrer que la coniférine imprègne la membrane lignifiée de toutes les plantes.

Cette opinion serait à vérifier; il n'est pas douteux que la coniférine existe ailleurs que dans les membranes. Les réactions colorées indiquées pour la coniférine peuvent très bien s'appliquer à l'*hadromal*, principe constitutif des membranes lignifiées.

## LILIACÉES

### Aloïnes.

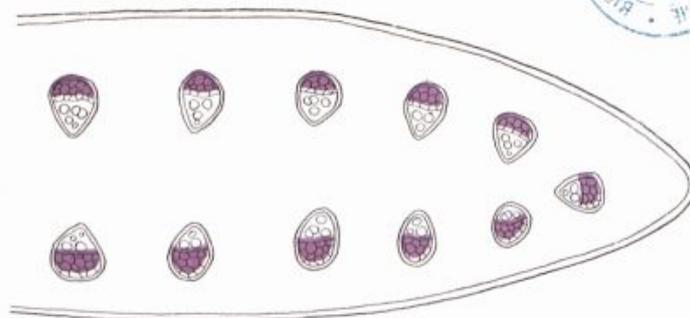
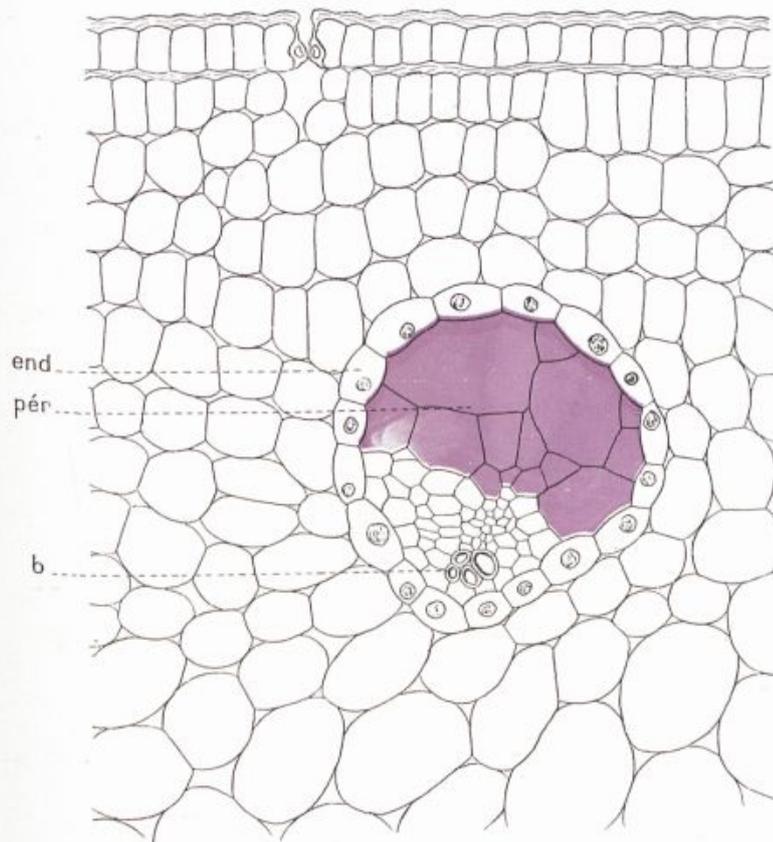
La nature chimique de la *Barbaloïne* a été déterminée ces dernières années par LÉGER. C'est un glucoside qui donne par dédoublement du *d-Arabinose* (*Aloïnose*), et de l'*Aloé-émodyne* :



Elle existe, dans l'aloès, à côté d'un isomère, l'*Isobarbaloïne*, et le mélange de ces deux corps constitue toute la série des aloïnes des différents auteurs qui ont étudié les Aloès avant LÉGER.

Dans l'Aloès du Natal, produit par une espèce d'*Aloe* encore indéterminée, LÉGER a isolé deux aloïnes différentes des précédentes : la *Nataloïne*  $C^{22}H^{36}O^9$  et l'*Homonataloïne*  $C^{22}H^{34}O^9$ , qui ne donnent pas d'émodyne par oxydation en milieu alcalin.

1. MOLISCH : Ein neues Coniferinreagens. *Ber. d. deutsch. bot. Gesell.*, 4, 301; 1886.



D'après MACQUET.

BONARD, SC.

*Aloe succotrina* Lam.; coupe schématique de la feuille et structure  
d'un faisceau libéro-ligneux.



**Caractères microchimiques.** — Les réactions que l'on pourrait employer en microchimie sont les suivantes :

1° La solution d'ammoniaque colore en rouge l'aloïne et l'isobarbaloïne.

2° L'eau bromée provoque dans la solution d'aloïne brute un précipité d'isobarbaloïne tétrabromée.

3° Une solution de sulfate de cuivre au 1/10 et de l'eau oxygénée communiquent à l'isobarbaloïne, sous l'action de la chaleur, une coloration rouge framboise.

4° Une solution de sulfate de cuivre au 1/10 et le sulfocyanure de potassium ou le nitroprussiate de potassium, donnent à chaud une coloration rouge framboise.

5° La macération de *Russula delica* colore l'isobarbaloïne en rouge pourpre, puis en noir.

6° La solution de bichromate de potassium additionnée de quelques gouttes d'acide sulfurique colore l'aloïne et l'isobarbaloïne en rouge violet.

7° Le tanin précipite les aloïnes.

8° Le chlorure d'or donne une coloration variant du violet au rouge clair.

Le bichlorure de platine donne une coloration rouge violet, ou rouge brun.

**Méthodes de localisation.** — La localisation de l'aloïne a été réalisée par MACQRET<sup>(1)</sup>, sur les indications de GUIGNARD. La méthode employée est très simple. On coupe des feuilles d'Aloès et on en plonge l'extrémité inférieure dans une solution de bichromate de potasse à 10 p. 100, à laquelle on ajoute quelques gouttes d'acide sulfurique.

Au bout de vingt-quatre heures, on pratique des coupes dans la partie supérieure de la feuille. On voit alors toute une région des faisceaux colorée en violet.

On peut faire une contre-expérience en laissant macérer un fragment de feuille d'Aloès dans l'alcool et en le maintenant ensuite dans une solution de bichromate de potasse. Le tissu aloéfère ne se colore plus.

**Répartition des Aloïnes.** — L'aloïne et l'isobarbaloïne se trouvent localisées dans les faisceaux libéro-ligneux des feuilles, car les tiges et les racines de l'*Aloe succotrina* Lam., traitées de la même façon, ne donnent aucune réaction.

Dans le faisceau, ces glucosides sont uniquement situés dans le péricycle dédoublé qui forme plus de la moitié externe du faisceau libéro-ligneux. Les cellules de ce péricycle sont quatre ou cinq fois plus longues que larges. TRÉCUL<sup>(2)</sup> avait déjà signalé que le suc propre des

1. MACQRET : Etude sur l'Aloès. *Th. pharm.*, Paris, 110; 1888.

2. A. TRÉCUL : Du suc propre dans les feuilles d'Aloès. *C. R. Ac. Sc.*, 72, 520-531; 1871 et *Ann. Sc. Nat.* (5 s.), 14, 80-90; 1871.

feuilles d'*Aloë*s se trouvait dans ce tissu particulier que l'on appelait *tissu chromogène*.

Chaque faisceau libéro-ligneux est entouré par un endoderme facile à reconnaître à la forme de ses cellules, allongées dans le sens tangentiel et pourvues chacune, en dehors de leur noyau, d'un gros globule jaune très réfringent de tanin. Cette substance n'a rien de commun avec l'aloïne, car dans l'*Apicra pentagona* Willd., où le péricycle correspondant au tissu aloïfère est complètement sclérifié, et où, par conséquent, le *suc propre* ne peut exister, on retrouve cette gaine avec l'aspect qu'elle présente dans l'*Aloe succotrina* Lam. (Pl. XVII).

## IRIDACÉES

### Crocine.

La *Crocine*, glucoside jaune, amorphe, soluble dans l'eau et l'alcool, a été retirée du Safran par KEISER. Par hydrolyse, elle donne un sucre réducteur cristallisé, le *Crocose*, isomère avec les hexoses, et de la *Crocétine*  $C^{24}H^{46}O^9$ .

**Localisation et Répartition de la Crocine dans les stigmates du *Crocus sativus* L.** — MOLISCH<sup>(1)</sup> a caractérisé microchimiquement la crocine dans les stigmates du *Crocus sativus* L. au moyen de plusieurs réactions colorées.

1° L'*acide sulfurique* donne une coloration bleu foncé devenant successivement violette, puis rouge cerise et brune; on peut, avec avantage, employer l'acide sulfurique un peu dilué,  $SO^4H^2 + H^2O$  (A. GORIS).

2° L'*acide nitrique concentré* donne une coloration bleue devenant rapidement brune;

3° L'*acide chlorhydrique* dissout la crocine et se colore en jaune.

La crocine se trouve dans le suc de toutes les cellules de l'organe.

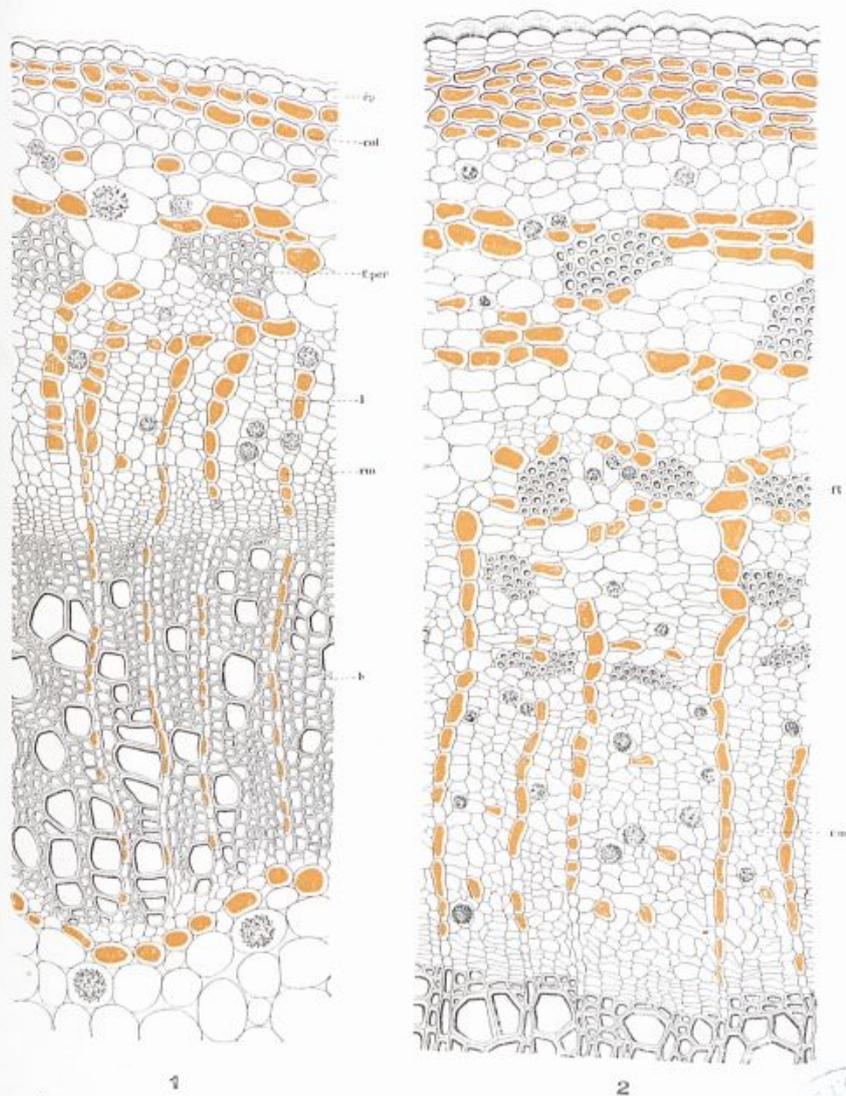
Après la mort de ce dernier, le glucoside diffuse et imprègne les membranes.

## SALICACÉES

### Salicine.

La *Salicine* est un glucoside retiré par LEROUX de l'écorce de diverses espèces de *Salix* et de *Populus*. C'est un corps cristallisé en aiguilles blanches prismatiques. Il est soluble dans l'eau froide, très

1. MOLISCH : Grundriss einer Histochemie der pflanzlichen Genussmittel. Jéna, 55, 1891.



1

D'après A. GORIS.

2

HONARD, sc.

*Salix alba* L. : 1, tige jeune; 2, écorce âgée.





soluble dans l'eau chaude et l'alcool, insoluble dans l'éther de pétrole et la benzine.

Par hydrolyse au moyen de l'émulsine, la salicine donne du *Glucose* et de la *Saligénine*; avec les acides, il y a transformation de la saligénine en un produit de condensation, la *Salirétine*.

**Caractères microchimiques.** — La seule réaction colorée de la salicine est la coloration rouge que lui communique l'acide sulfurique concentré, coloration qui disparaît par addition d'eau.

L'acide sulfurique répondant à la formule  $\text{SO}^*\text{H}^2 + \text{H}^2\text{O}$ , additionné de séléniate de soude, donne également une coloration rouge.

**Méthodes de localisation.** — La recherche microchimique de la salicine a d'abord été étudiée par ROSOLL<sup>(1)</sup>, puis aussi par A. GORIS<sup>(2)</sup> qui a indiqué une méthode de localisation au moyen de l'acide sulfurique et du séléniate de soude.

L'acide sulfurique concentré, employé par ROSOLL, ne peut guère convenir à cause de sa trop grande action destructive sur les tissus végétaux.

L'acide sulfurique dilué ne donne aucune réaction avec la salicine; mais il n'en est pas de même si l'on y ajoute du séléniate de soude en cristaux.

Au contact du réactif ainsi préparé, il se développe une coloration rouge, qui va sans cesse en augmentant et met dix à quinze minutes pour atteindre son maximum d'intensité.

Cette réaction peut être employée à la recherche de la salicine en prenant les précautions suivantes : 2 grammes de séléniate de soude sont réduits en poudre fine et mélangés avec 2 centimètres cubes d'acide sulfurique hydraté<sup>(3)</sup>. On obtient de la sorte une bouillie que l'on conserve dans un flacon bien bouché, afin d'éviter l'absorption de l'eau, car, trop hydraté, le réactif serait inutilisable. Au moment de l'employer, après avoir bien mélangé le tout, on porte 5 à 6 gouttes de cette bouillie dans un verre de montre, et on y abandonne les coupes pendant cinq à dix minutes. Après cinq minutes de contact, la réaction est déjà bien commencée, mais elle n'est généralement complète que vers la septième ou la huitième minute. On est d'ailleurs guidé par la coloration rosée que prend la préparation. Les coupes sont alors retirées du réactif, et portées dans un verre de montre renfermant de la glycérine pure. Les cristaux de séléniate, en raison de leur densité plus élevée, se séparent,

1. ROSOLL. Ueber den mikrochem. Nachweis der Glycoside und Alkaloide in den veget. Geweben. 25 Jahresh. des Landes-Realgymnasiums zu Stockerau. Stockerau 1889-1890.

2. A. GORIS. Recherches microchimiques sur quelques glucosides et quelques tanins végétaux. Th. Doct. Sc., Paris, 1903, 103-111.

3.  $\text{SO}^*\text{H}^2 + \text{H}^2\text{O}$ .

et la coupe, débarrassée de la bouillie de cristaux qui l'entourait, surnage le liquide; on la monte alors dans une goutte de glycérine.

On obtient ainsi une très belle localisation, mais cette manipulation est délicate et il est nécessaire de recommencer un certain nombre de fois pour arriver à posséder une excellente préparation. Ce traitement par l'acide sulfurique a l'inconvénient d'endommager les tissus: aussi n'est-il pas rare que les préparations se détruisent pendant le lavage dans la glycérine. Il faut donc avoir soin de ne pas trop prolonger le contact des coupes avec l'acide. Ajoutons que l'eau ne peut pas être employée

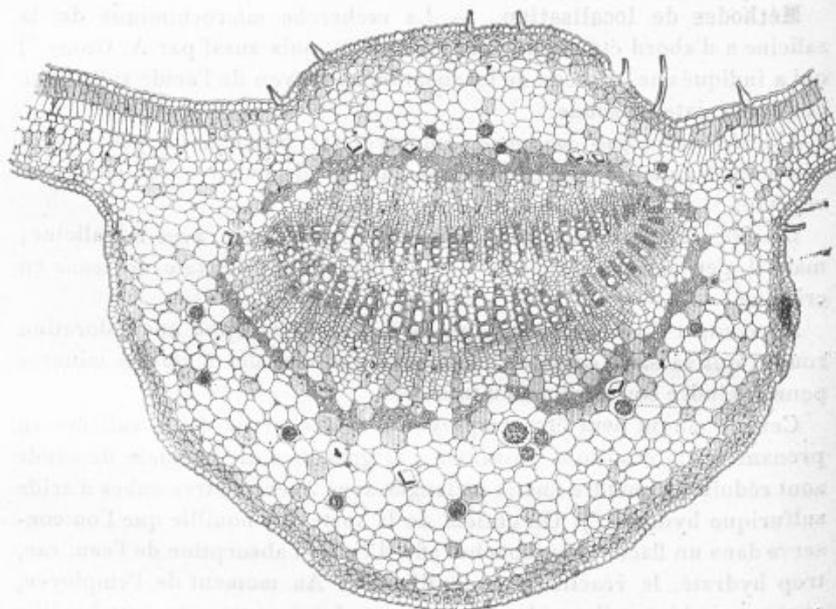


FIG. 5. — Répartition de la Salicine dans la feuille de *Salix alba* L.

pour laver les coupes au sortir du réactif, car le dégagement de chaleur qui résulte de sa combinaison avec l'acide désagrège complètement les tissus.

Si l'on fait agir ce réactif sur un Saule sans salicine: *S. Caprea* L., *S. viminalis* L., ou sur *Populus nigra* L., on n'obtient pas la coloration rouge caractéristique, mais une coloration jaune qui persiste toujours.

Sous l'action de ce réactif, les fibres péryclicques se colorent en rose, puis en rouge; mais il ne faudrait pas en déduire qu'elles renferment de la salicine, car la même réaction se fait chez les Saules sans salicine; elle se produit même par action de l'acide sulfurique hydraté qui n'a aucune action sur la salicine.

**Répartition de la Salicine dans le *Salix alba* L. — Tige jeune. —** La salicine se localise dans la première et aussi dans la seconde assise de tissu collenchymateux sous-épidermique, dans l'endoderme, au-dessus des flots fibreux péryclics, dans les rayons médullaires et à la périphérie de la moelle. On en rencontre très peu dans le parenchyme cortical et le liber (Pl. XVIII, 1).

L'épiderme n'en renferme pas.

Dans une écorce de tige âgée, le phelloderme est très riche en glucoside. On le rencontre aussi en grande quantité dans les cellules de la région endodermique, qui séparent les amas fibreux péryclics. La réaction est également intense vers la partie externe du liber, au voisinage du péryclic. La salicine est proportionnellement plus abondante dans l'écorce âgée que dans l'écorce jeune (Pl. XVIII, 2).

**Feuille. —** Dans la nervure médiane, on rencontre le glucoside principalement dans les assises collenchymateuses sous-épidermiques, avec une réaction plus intense à la partie supérieure de la feuille, dans l'endoderme, les rayons médullaires et à la périphérie de la moelle. On en rencontre très peu dans le parenchyme de la nervure et les épidermes. Le liber et le parenchyme ligneux en sont presque totalement dépourvus.

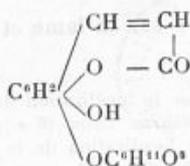
Dans le limbe, les épidermes ne renferment pas de salicine. C'est un fait assez curieux, mais qui n'est pas spécial au *Salix alba* L., car il a été déjà signalé pour les alcaloïdes, chez les *Cinchona*. La salicine se localise alors dans l'hypoderme de la face inférieure, dans le tissu palissadique de la face supérieure, et dans quelques cellules du mésophylle, au voisinage des faisceaux des nervures secondaires (fig. 5).

L'acide salicitannique se trouve situé dans les mêmes cellules que la salicine (A. GORIS).

#### THYMÉLÉACÉES.

##### Daphnine.

La Daphnine est un isomère de l'esculine que l'on retire du *Daphne alpina* L. et du *Daphne Gnidium* L.



Par hydrolyse, la daphnine se dédouble en Glucose et en Daphnétine isomère de l'esculétine.

La daphnine est très soluble dans l'alcool, peu soluble dans l'eau froide, plus dans l'eau chaude et insoluble dans l'éther.

**Caractères microchimiques.** — Les réactions colorées de ce corps sont peu nombreuses et on ne connaît guère que : l'action des alcalis, qui donnent une coloration jaune soufre avec les cristaux de daphnine, et la coloration rouge que leur communique l'acide azotique concentré.

L'action successive de l'acide azotique et de l'ammoniaque, employée par nous dans la localisation de l'esculine, ne donne aucun résultat.

RUSSELL a constaté que les cristaux de daphnine, mis en présence de l'iodure de potassium iodé, se dissolvent et prennent une teinte rose qui passe successivement à l'orangé, au rouge carmin et enfin au rouge brun.

**Méthodes de localisation.** — La localisation et la répartition de la daphnine ont été étudiées par L. SAUVAN<sup>(1)</sup> dans les divers organes du *D. alpina* L. et du *D. Gnidium* L. Il emploie successivement une solution de potasse et l'acide nitrique concentré qui donnent une coloration jaune orange ou rouge sang suivant la proportion du glucoside.

RUSSELL<sup>(2)</sup> a étudié plus spécialement le *Daphne Laureola* L. au moyen du réactif iodo-ioduré. Les cellules à daphnine se colorent en orangé brun. La réaction ne se produit plus sur des coupes immergées pendant quelques instants dans l'alcool tartrique<sup>(3)</sup>.

L'auteur a contrôlé ses résultats par le perchlorure de fer qui donne une teinte ardoisée, par le sulfate ferreux qui produit dans les cellules à glucoside des sphérules à reflets rougeâtres se fusionnant en sphères plus volumineuses. Ces sphères s'unissent les unes aux autres et finalement on ne trouve plus dans les cellules qu'un amas de couleur rouge brun. Il a également eu recours à l'acide sulfurique, à la potasse qui donne une coloration jaune soufre, et à l'acide phosphomolybdique qui donne un précipité gris brunâtre.

Nous avons tout récemment repris l'étude de cette localisation dans les tiges et les feuilles de ces trois plantes.

La solution de potasse doit être assez concentrée, et nous nous sommes arrêté aux proportions suivantes : Potasse 10 grammes ; eau 100 centimètres cubes, que nous avons indiquées dans notre précédent travail sur le *D. alpina* L. (\*).

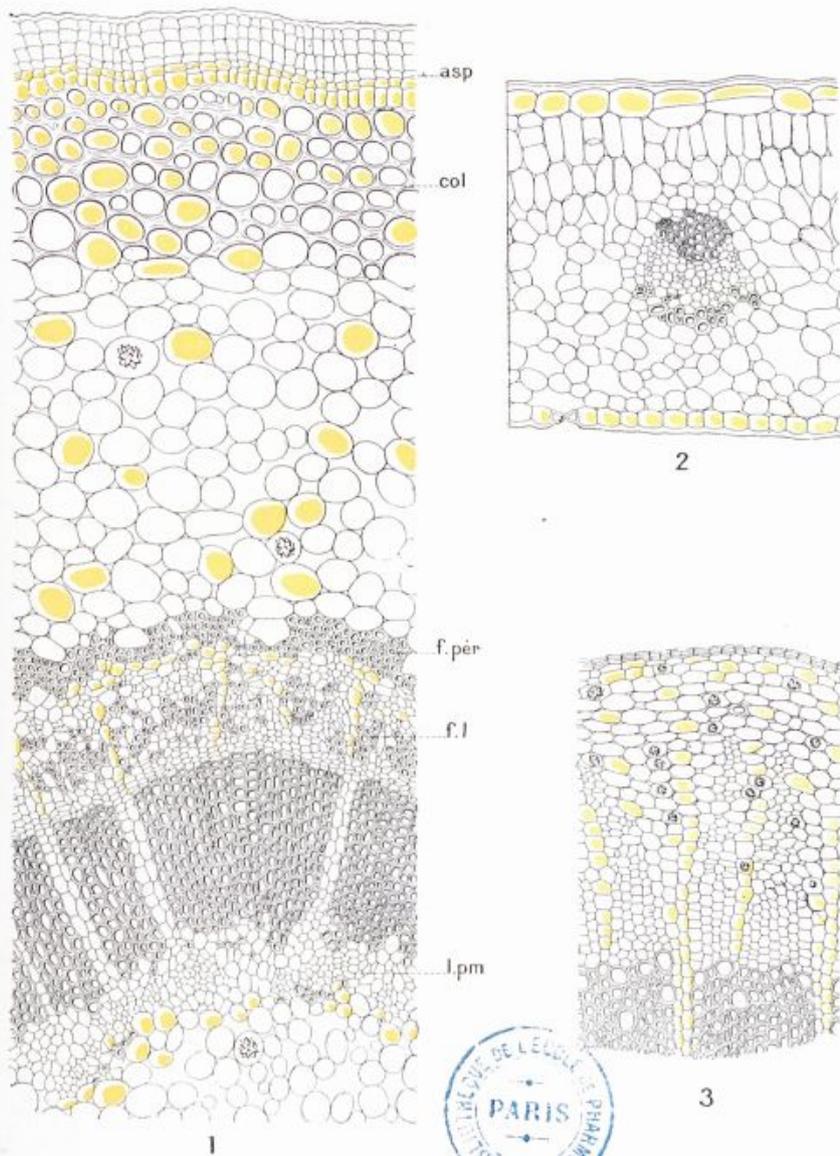
Les coupes sont déposées sur la lame et recouvertes d'une lamelle,

1. L. SAUVAN : Recherches sur la localisation de la *Daphnine* dans les *Daphne alpina* et *D. Gnidium*. *Journ. Pharm. Chim.* (6 s.), 3, 443-445, 1896.

2. W. RUSSELL : Essai sur la localisation de la *Daphnine* dans le *Daphne Laureola* L. *Rev. gén. de bot.*, 14, 420-426, 1912.

3. L'alcool suffirait pour dissoudre la daphnine qui est un glucoside.

4. A. GORIS : Recherches microchimiques sur quelques glucosides et quelques tanins végétaux. *Thèse Doct. Sc.*, Paris, 1903, 100.



PIAULT, del.

BONARD, sc.

*Daphne Laureola L.*: 1, tige; 2, feuille; 3, racine.



puis on place près de cette dernière une solution de potasse qui, en arrivant au contact des cellules à daphnine, les colore en jaune soufre. Il faut suivre la réaction sous le microscope, car la diffusion est assez rapide et on ne peut plus affirmer dans quelles cellules a pris naissance la coloration. Une solution de potasse plus faible, solution à 4 p. 100, donne aussi de bons résultats pour les assises du phelloderme, mais la coloration obtenue est trop faible dans les cellules du liber et des rayons médullaires.

Nous avons contrôlé cette localisation par l'emploi de l'iodure de potassium iodé qui donne de très bons résultats et permet de bien déterminer les cellules à daphnine. Ces deux réactions se complètent parfaitement.

L'acide azotique concentré, qui donne une belle réaction *in vitro*, ne nous a donné aucun résultat en histochimie. Peut-être devons-nous attribuer cet échec à la faible teneur en daphnine de nos échantillons.

**Répartition de la Daphnine dans les *D. alpina* L., *D. Gnidium* L. et *D. Laureola* L. — Racine.** — Renferme très peu de daphnine et seulement quand elle est très jeune. Elle se localise à la périphérie de l'écorce et dans les rayons médullaires libériens (Pl. XIX, 3).

*Tige.* — La daphnine existe : dans les deux premières rangées des cellules phellodermiques, qui prennent une coloration jaune intense, mais surtout dans la première; dans quelques cellules du parenchyme cortical et, en particulier, au voisinage du phelloderme; dans les rayons médullaires libériens et quelques rares cellules du parenchyme libérien au voisinage des fibres. Enfin, dans la zone médullaire, elle se trouve presque exclusivement au contact des îlots de tissu criblé pérимédullaire.

RUSSELL prétend que le parenchyme cortical ne renferme pas de glucoside en dehors des premières assises phellodermiques. C'est là une erreur; si l'iodure de potassium iodé ne donne pas de précipité dans la cellule, cela tient à ce que le produit s'y trouve en trop petite quantité. Avec un peu de soin, on peut parfaitement voir certaines cellules du parenchyme se colorer par la potasse et même par l'iodure de potassium iodé (Pl. XIX, 1).

Le point végétatif ne renferme pas de glucoside : il n'en acquiert qu'à une certaine distance du sommet (RUSSELL).

*Feuille.* — Dans le limbe, la daphnine se localise : dans toutes les cellules de l'épiderme supérieur, dans les cellules de l'épiderme inférieur, surtout au-dessus de la nervure principale, mais toujours en moins grande quantité que dans l'épiderme supérieur. Ajoutons que l'on obtient une réaction faible dans le tissu palissadique et le tissu lacuneux (Pl. XIX, 2).

Dans la nervure médiane, nous pouvons signaler comme donnant une réaction caractéristique : les épidermes, l'endoderme, les rayons médul-

lares et les cellules de la région péridermique. Quelques cellules du parenchyme et du liber se colorent très faiblement en jaune (1).

Ces résultats concordent avec ceux indiqués par L. SAUVAN.

Ce dernier auteur a, de plus, étudié la répartition du glucoside dans le fruit et dans la graine.

*Organe de reproduction.* — *Fleur.* — Le calice, l'androcée, le gynécée contiennent de la daphnine qui est répartie de la même façon que dans la feuille, avec toutefois prédominance dans l'épiderme externe.

Les téguments de l'ovule en renferment et on en observe dans le nucelle au voisinage de la chalaze.

*Fruit.* — De tous les organes du végétal, le fruit est celui qui contient le plus de daphnine : ce corps se trouve en abondance dans toutes les cellules.

*Graine.* — Le glucoside existe dans toutes les cellules de l'albumen et de l'embryon. Les téguments séminaux sont riches en daphnine ; ce principe y existe en aussi grande quantité que dans le fruit.

## POLYGONACÉES

### 1. — Polygonine.

La *Polygonine* est un glucoside retiré du *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc., qui se dédouble en *Emodine* et en un sucre non étudié. Elle existe à côté d'un autre glucoside moins connu.

**Caractères microchimiques.** — Ces glucosides se colorent en rouge par les solutions alcalines (*Réaction de Bornträger*).

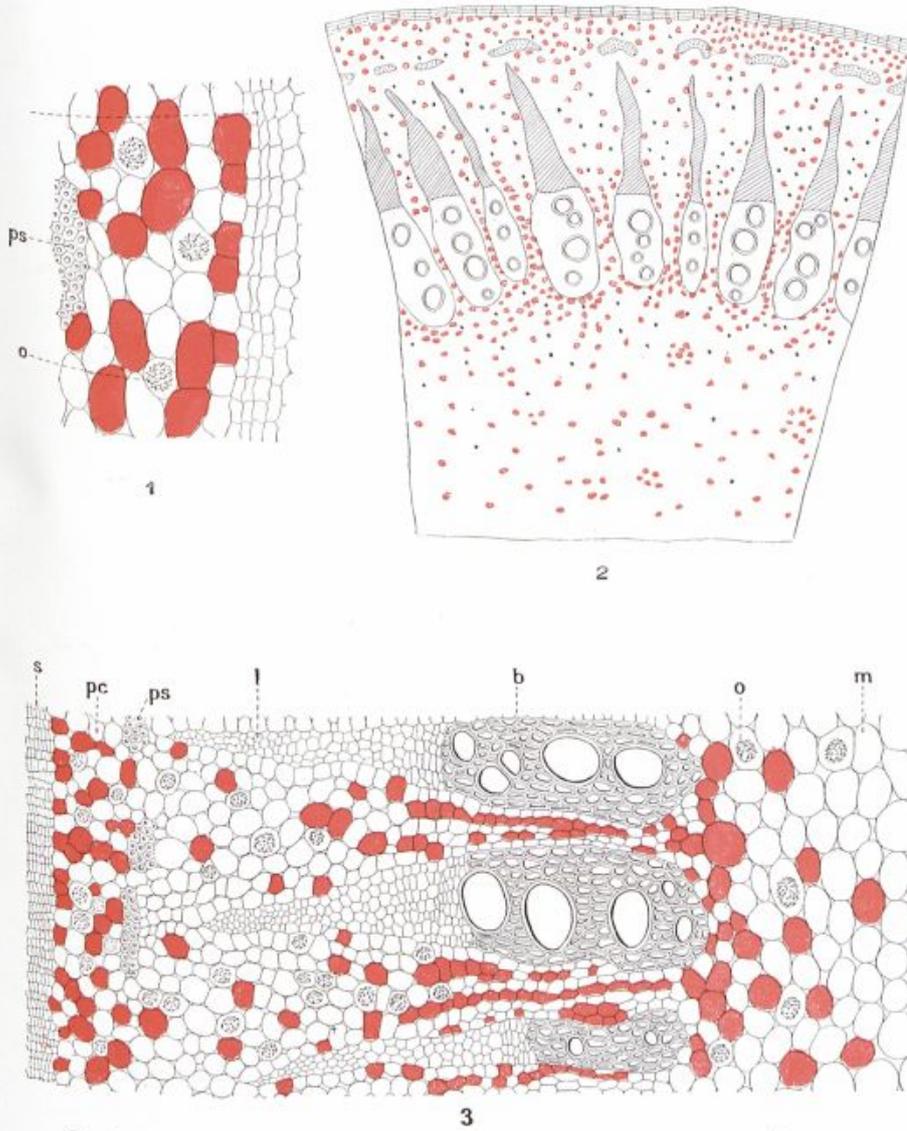
**Méthodes de localisation.** — La localisation de ces glucosides a été réalisée par A. GORIS et L. CRÉTÉ (2).

On plonge les coupes dans une solution concentrée d'un sel neutre ou chimiquement inactif sur le corps à déceler. Le chlorure de sodium à 5 p. 100, l'azotate de potasse à 5 p. 100, donnent de bons résultats.

Avec ces solutions hypertoniques, le contenu des cellules renfermant les dérivés anthraquinoniques est contracté et séparé des parois cellulaires, sans que l'on puisse remarquer la moindre trace d'osmose. On fait alors agir latéralement, sous la lamelle, une goutte d'une solution de

1. N. B. — RUSSELL prétend qu'en laissant séjourner les feuilles et les tiges dans l'alcool tartrique pendant vingt-quatre heures on obtient des cristaux qu'il rapporte à la daphnine. Cette assertion mériterait d'être vérifiée, car la daphnine est très soluble dans l'alcool, et l'on peut se demander si ces cristaux ne sont pas tout simplement du tartrate de potasse, sel peu soluble dans l'alcool, qui se serait formé par action de l'acide tartrique sur les sels de potasse de la plante.

2. A. GORIS et L. CRÉTÉ : Sur la valeur purgative du *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. *Bull. Sc. Pharm.*, 14, 698-703, 1907.



D'après A. GORTS et L. GUÉRÉ

BONARD, sc.

*Polygonum cuspidatum* Sieb et Zucc.; 1, coupe schématique d'un rhizome;  
2, parenchyme cortical; 3, structure anatomique du rhizome.





potasse très diluée (0,50 p. 100). On constate que chaque cellule à contenu jaune prend une magnifique coloration rouge grenat.

**Répartition du glucoside.** — Dans la racine ou le rhizome, ces cellules sont réparties dans tous les parenchymes, cortical et libérien, dans les rayons médullaires et enfin dans la moelle, surtout à la périphérie, au voisinage des vaisseaux du bois (Pl. XX).

Dans les coupes longitudinales, ces cellules sont très régulièrement disposées en files qui rappellent des laticifères articulés dont les parois transversales ne seraient pas résorbées, ou mieux encore certaines cellules à tanin des Rosacées.

La base des tiges aériennes, les feuilles, ne renferment pas de glucosides anthraquinoniques.

Les cellules à glucoside se colorent en noir intense par la solution diluée de perchlorure de fer; elles donnent un précipité par le bichromate de potasse, l'acétate neutre de cuivre. Il n'est pas douteux qu'un composé tannique existe dans les mêmes cellules que la polygonine; c'est là un fait que nous retrouverons également pour la Rhubarbe.

## 2. — Rhéopurgarine.

La *Rhéopurgarine* est un glucoside isolé par GILSON<sup>(1)</sup> de la Rhubarbe de Chine. C'est un corps qui se présente sous l'aspect de fines aiguilles jaune clair. Elle est insoluble dans l'eau froide, assez soluble dans l'eau chaude, peu soluble dans les alcools éthylique et méthylique absolus et froids, plus soluble dans ces alcools dilués et chauds, difficilement soluble dans l'acétone et l'éther acétique froids, insoluble dans l'éther, le chloroforme, la benzine, le toluène. Son meilleur dissolvant est la pyridine. Elle précipite par le tanin, mais se dissout dans un excès de réactif.

D'après GILSON, ce serait un véritable « complexe » formé de la combinaison de quatre glucosides : les *glucosides de l'Emodine* et de la *Rhéine* qui n'ont pu être isolés à l'état de substances définies et dont on a seulement caractérisé les produits de dédoublement, la *Chrysophanéine* et la *Rhéochry sine*. Ces deux dernières substances se dédoublent en donnant : l'une du *glucose* et de l'*acide Chrysophanique*, l'autre du *glucose* et de la *Rhéochrysidine*.

Tous ces corps ont été obtenus à l'état cristallisé par GILSON et parfaitement décrits par ce savant belge.

**Caractères microchimiques.** — Ces glucosides anthraquinoniques se colorent en rouge par les solutions alcalines (*Réaction de Bornträger*).

1. E. GILSON : Le principe actif de la Rhubarbe. *Rev. pharm. des Flandres*, 169, 1898.

**Méthodes de localisation.** — BERTHIER (1) a cherché à localiser les glucosides de la Rhubarbe, au moyen de la *potasse* en solution étendue et de l'*acide sulfurique* concentré qui colorent l'acide chrysophanique en rouge faible.

On arrive à un meilleur résultat en faisant agir la solution de potasse très diluée sur les coupes préalablement plongées dans une solution de chlorure de sodium à 5 p. 100 qui plasmolyse les cellules, comme nous venons de l'indiquer pour le *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.

On peut encore faire agir les *vapeurs d'ammoniaque* en employant le dispositif imaginé par SOUÈGES (2) et que nous avons décrit précédemment.

**Répartition des glucosides.** — Les glucosides sont surtout situés dans les rayons médullaires et aussi dans les cellules des parenchymes cortical, libérien et ligneux.

A. GORIS et CRÉTÉ (3) ont montré que toutes les cellules à glucosides anthraquinoniques donnent les réactions des composés tanniques.

### 3. — Glucosides des *Rumex*.

Le *Rumex obtusifolius* L. renferme également un glucoside anthraquinonique donnant par dédoublement de l'*acide chrysophanique*. La localisation de ce corps a été faite par BORSCHOW (4) au moyen de la *solution de potasse diluée*. On peut employer avec avantage la méthode que nous avons indiquée pour le *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.

**Répartition du glucoside.** — *Racine.* — Dans une jeune racine latérale, toutes les cellules du parenchyme extérieur contiguës au liège (phello-derme) se colorent en rouge intense. Les cellules du parenchyme libérien secondaire renferment du glucoside, tandis qu'il n'y en a pas, ou très peu, dans le parenchyme libérien primaire. Les rayons médullaires se colorent fortement.

Quelques éléments ligneux du bois et le parenchyme ligneux non lignifié, qui se trouve entre le bois secondaire et le bois primaire, donnent également la réaction caractéristique.

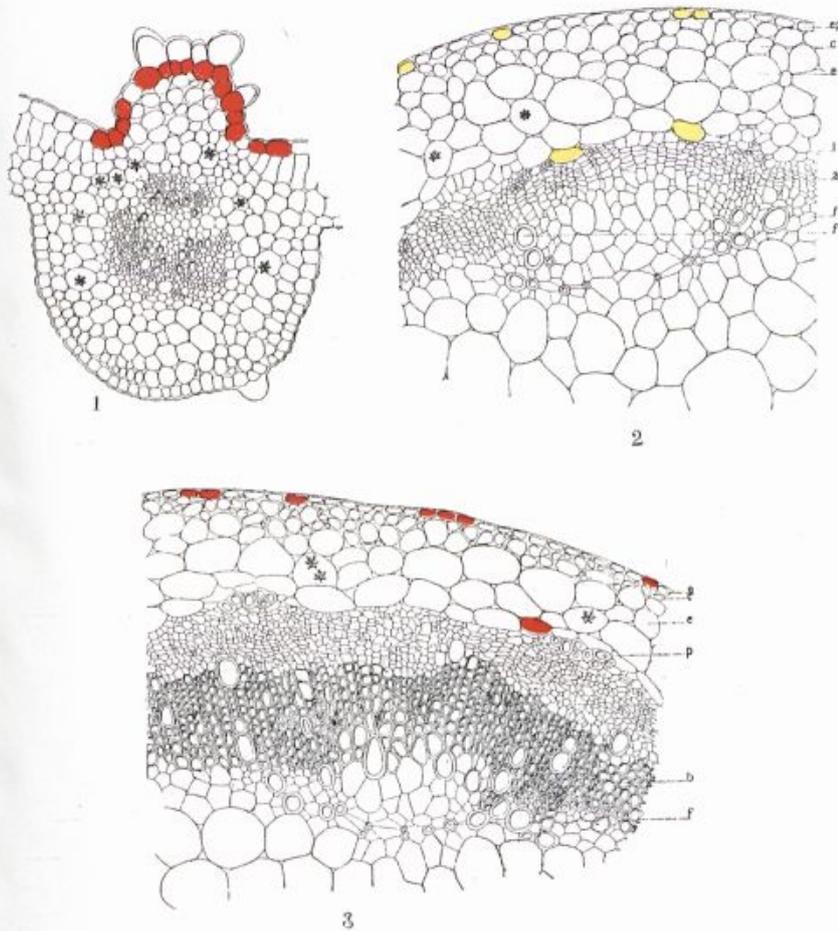
Dans une racine principale, il y a peu de glucoside dans le parenchyme ligneux central. Ce sont surtout les rayons médullaires, le parenchyme libérien, qui sont riches en principes anthraquinoniques. Dans le parenchyme cortical, la proportion de ces composés est très faible, contrairement à ce que l'on trouve dans la racine plus jeune.

1. BERTHIER : Des produits fournis à la Matière Médicale par les genres *Rumex* et *Rheum*. (Manuscrit déposé à la Bibliothèque de l'École de Pharmacie de Paris, Prix MENIER), 1899.

2. R. SOUÈGES : Emploi des réactifs gazeux pour la caractérisation des principes actifs dans les drogues. *Bull. Sc. Pharm.*, 18, 527, 1911.

3. A. GORIS et L. CRÉTÉ : La Rhubarbe de Chine. *Bull. Sc. Pharm.*, 14, 93-104, 1907.

4. BORSCHOW : Beiträge zur Histochemie der Pflanzen. *Bot. Zeit.*, 32, 20, 1874.



D'après EM. MIÉGE.

*Fagopyrum esculentum* Moench ; 1, localisation de la matière colorante rouge de la feuille ; 2, localisation du tannin de la jeune tige ; 3, matière colorante de la tige âgée.





4. — Quercitrine (*Rutine*).

La *Rutine*, glucoside retiré de la Rue (*Ruta graveolens* L.), existe dans les *Fagopyrum*. Certains auteurs l'identifient avec la *quercitrine*. Elle se dédouble en *rhamnose* et *quercétine*.

**Caractères microchimiques.** — L'*ammoniaque*, les *alcalis*, les *carbonates alcalins*, l'*eau de baryte* ou l'*eau de chaux* colorent la rutine en jaune. La solution brunit à l'air par oxydation.

**Méthodes de localisation.** — MIÈGE (1) recommande de monter les coupes dans une solution de chlorure de sodium à 5 p. 100, et de faire arriver sous la lamelle une des *solutions alcalines* suivantes : ammoniaque 40 gouttes, eau distillée 100 cm<sup>3</sup>; eau de baryte ou eau de chaux 1 partie, eau distillée 2 parties.

**Répartition de la Rutine dans le *Fagopyrum esculentum* Moench.** — En traitant des feuilles et des tiges de *Fagopyrum esculentum* Moench à diverses époques de leur développement, MIÈGE a pu constater que dans des tissus jeunes, encore complètement verts, les réactifs indiqués plus haut donnaient une réaction dans les cellules épidermiques ou sous-épidermiques, dans l'endoderme, et, rarement, dans quelques cellules du parenchyme.

Cette répartition correspondait à celle des substances tanniques existant dans la plante.

À l'approche de la maturité, la tige, les nervures des feuilles et les arêtes des fruits sont colorées d'une teinte rouge, surtout du côté exposé à la lumière. En examinant les coupes de ces organes, on voit que ce sont les cellules qui se colorent sous l'influence des alcalis ou des alcalino-terreux qui se sont teintés en bleu violacé ou en rouge. C'est le long des arêtes, c'est-à-dire dans la partie la plus exposée à la lumière, que se trouvent ces éléments colorés; dans les sillons, au contraire, ces mêmes éléments restent incolores (Pl. XXI).

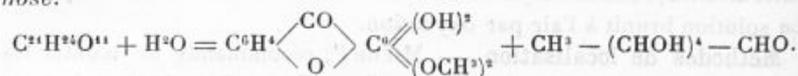
On ne connaît pas la relation chimique qui existe entre ces divers principes, mais la remarque de MIÈGE est des plus intéressantes. Elle tendrait à montrer que la coloration des tissus proviendrait d'une oxydation de ces composés glucosidiques.

1. EM. MIÈGE : Recherches sur les principales espèces de *Fagopyrum*. Th. Doc. Sc. Paris, 379, 1910.

## DATISCACÉES

## Datiscine.

La *Datiscine*, glucoside du *Datisca cannabina* L. a été découverte par STENHOUSE. Par hydrolyse, elle se décompose en *Datiscéline* et *Rhamnose*.



Ce glucoside est soluble dans l'alcool, très peu dans l'eau froide, plus soluble dans l'eau chaude. L'éther le dissout et, par évaporation de la liqueur étherée, il se forme de très beaux cristaux.

Sa formule est  $C^{22}H^{34}O^{11} + 2H^2O$ . Pt fus. 190°.

La *Datiscéline*,  $C^{16}H^{18}O^6$ , est insoluble dans l'eau froide.

**Caractères microchimiques.** — Les réactions microchimiques permettant de localiser ce composé sont les suivantes :

- 1° L'eau de chaux et l'eau de baryte donnent une coloration jaune intense dans les cellules à datiscine ;
- 2° L'acétate de plomb : un précipité jaune ;
- 3° Le chlorure de zinc : un précipité jaune ;
- 4° Les sels de cuivre donnent des précipités verts ;
- 5° Le chlorure de fer : un précipité vert brun foncé.

**Méthodes de localisation.** — O. HERMANN<sup>(1)</sup> a étudié la répartition de ce glucoside au moyen de l'eau de chaux et de l'eau de baryte que l'on fait arriver sous la lamelle. On obtient, en opérant de cette façon, une couleur jaune intense dans les cellules contenant le glucoside.

**Répartition du glucoside.** — D'après HERMANN, la répartition du glucoside dans les organes du *Datisca cannabina* L. serait la suivante :

**Racine.** — Le glucoside se trouve dans le parenchyme cortical, dispersé un peu sans ordre, dans le parenchyme libérien et les tubes criblés, dans les rayons médullaires. La membrane de certaines cellules lignifiées du bois contiendrait de la datiscine.

**Tige.** — On rencontre le glucoside dans la paroi des membranes épaissies des cellules épidermiques, dans le parenchyme cortical, le liber et même les fibres du liber. La partie externe du bois se colore plus fortement en jaune que la partie interne et le glucoside semble se trouver dans les membranes. Les rayons médullaires de la zone libérienne donnent une réaction très nette.

1. O. HERMANN : Nachweis organ. Verbindungen in vegetabil. Geweben. *Dissert.* Leipzig, 1876.

Dans le cambium, la moelle et les rayons médullaires de la zone ligneuse, il n'y aurait pas de principes actifs.

*Feuille.* — Les membranes des cellules épidermiques et quelques cellules du parenchyme chlorophyllien se colorent par l'eau de baryte ou l'eau de chaux.

Dans la nervure médiane, les éléments des faisceaux du bois, de même que certaines cellules du liber, sont colorés en jaune.

HERMANN admet, d'autre part, que la datiscine semble se former dans les cellules et se déposer ensuite dans les membranes lignifiées. Ce serait là un fait analogue à ce que l'on a signalé pour la coniférine. Cette hypothèse ne nous semble pas suffisamment justifiée.

Nous avons donc repris l'étude de cette localisation.

La meilleure technique à employer consiste, selon nous, à monter les coupes dans une solution concentrée de chlorure de sodium. Le glucoside colore le suc cellulaire en jaune; sous l'action de la solution concentrée de chlorure de sodium, il se forme de petites vésicules jaunâtres à l'intérieur des cellules.

Le chlorure de zinc, l'acétate de cuivre amènent une diffusion très rapide, et c'est surtout après l'emploi de ces réactifs que les fibres et les éléments ligneux se colorent en jaune et peuvent conduire à des erreurs d'interprétation.

Les conclusions d'HERMANN sont justes en ce qui concerne la racine; la présence de datiscine dans les tubes criblés nous paraît cependant douteuse.

Dans la tige, il existe un peu de glucoside au pourtour de la moelle; les cellules du parenchyme cortical qui renferment de la datiscine se trouvent dans une zone à chlorophylle séparée de l'épiderme par quatre ou cinq assises de collenchyme et sont, par suite, très visibles.

Nous n'avons pas trouvé de glucoside dans la membrane des cellules épidermiques. En outre, la tige de 1 centimètre de diamètre, que nous avons étudiée, ne renfermait pas de fibres libériennes et les paquets de fibres péricycliques, très développés, qui coiffent les faisceaux, ne contiennent pas de datiscine. Ces éléments se colorent à la longue en jaune, mais c'est là un phénomène secondaire dû à la diffusion de la matière colorante. Il en est vraisemblablement de même de la coloration très nette que prennent les parois des éléments du bois situés au voisinage du liber.

Nous pensons, contrairement à HERMANN, que cette coloration est due au glucoside contenu dans les éléments du liber.

D'ailleurs, dans le pétiole, on voit nettement le glucoside localisé dans le parenchyme cortical, l'endoderme, le liber et quelques cellules du parenchyme libérien au voisinage de la moelle. Dans cet organe, les vaisseaux et les fibres ne sont pas colorés.

Dans la feuille, le glucoside existe surtout dans le liber des faisceaux, et aussi dans le parenchyme libérien; on n'en trouve pas dans les membranes des cellules épidermiques, contrairement à ce que prétend HERMANN.

## RENONCULACÉES

### 1. — Glucosides des *Clematis*.

VANDERLINDEN <sup>(1)</sup> a étudié les organes aériens et souterrains des *Clematis Vitalba* L. et *Cl. stans* Sieb. et Zucc., et n'y a trouvé ni alcaloïde, ni glucoside.

M<sup>lle</sup> LUISA CUOGHI-COSTANTINI <sup>(2)</sup> a étudié le *C. Vitalba* v. *integrifolia* et le *Cl. campaniflora* Brot. et a signalé la présence d'un glucoside dans les semences.

En traitant par l'iodure de potassium iodé, elle obtient un abondant précipité qui s'obtient encore avec des coupes traitées par l'alcool tartrique. Cette réaction est donc due à une matière albuminoïde.

Si on monte une coupe dans deux gouttes d'une solution alcoolique de naphтол à 20 p. 100 et si l'on ajoute deux gouttes d'acide sulfurique concentré (D = 1,83), on obtient une coloration violette dans les cellules de l'albumen. La réaction n'est pas trop violente, parce que l'action destructive de l'acide sulfurique est tempérée par sa dilution dans l'alcool.

Avec l'acide sulfurique et le thymol, on obtient une coloration rosée.

Avec *C. campaniflora* Brot. la réaction est moins nette, parce que les membranes des cellules résistent moins bien à l'action de l'acide sulfurique.

### 2. — Glucosides des *Anemone*.

VANDERLINDEN <sup>(3)</sup> a examiné les espèces *Anemone japonica* Sieb. et Zucc., *A. nemorosa* L., *A. pratensis* L., *A. Pulsatilla* L., et n'a obtenu aucune réaction glucosidique dans ces plantes.

LUISA CUOGHI-COSTANTINI <sup>(4)</sup> a étudié *A. ranunculoïdes* L., *A. coronaria* L., *A. japonica* Sieb. et Zucc., *A. alba* Juss., et conclut à la présence d'un glucoside dans les feuilles.

1. VANDERLINDEN : Recherches microchimiques sur la présence des alcaloïdes et des glucosides dans la famille des Renonculacées. *Ann. Soc. roy. des Sc. méd. et nat. de Bruxelles*, 10, fasc. I, 50 p., et 2 pl. col., 1901. *Recueil Inst. bot.* ERRERA, 5, 135-178, 1902.

2. M<sup>lle</sup> LUISA CUOGHI-COSTANTINI : Nuove ricerche sulla localizzazione microchimica di alcaloidi e glucosidi in alcune « Renonculacee ». *Atti del Reale Istituto Veneto di scienze, lettere ed arti*, 71, 1159, 1911-1912.

3. VANDERLINDEN : *Loc. cit.*

4. LUISA CUOGHI-COSTANTINI : *Loc. cit.*

L'iodure de potassium iodé donne à la face supérieure et à la face inférieure de la feuille un précipité faible, que l'on n'obtient pas par les autres réactifs des alcaloïdes.

Si on soumet les feuilles d'*A. ranunculoides* L. à la réaction de l'acide sulfurique et de l' $\alpha$ -naphтол, ou du thymol, on obtient des colorations violettes ou rouges dans les parties épidermiques et surtout dans les cellules allongées qui sont situées au-dessus des nervures.

La réaction persiste longtemps, car les membranes sont très résistantes à l'action de l'acide.

### 3. — Glucosides de l'*Eranthis*.

VANDERLINDEN n'a trouvé dans l'*Eranthis hyemalis* Salisb. ni glucoside ni alcaloïde.

LUISA CUOGHI-COSTANTINI admet la présence d'un glucoside dans cette plante. L'acide sulfurique et l' $\alpha$ -naphтол donnent une coloration violette dans l'épiderme de la feuille et dans la partie du pédoncule la plus rapprochée de la fleur.

Les réactifs des alcaloïdes n'y donnent aucune réaction.

### 4. — Adonidine.

L'Adonidine est un glucoside de l'*Adonis vernalis* L. isolé par CERVELLO. C'est une poudre jaune, hygroscopique, soluble dans l'eau et l'alcool.

**Méthode de localisation et Répartition du glucoside.** — L'adonidine précipite le tanin et se colore en rouge par l'acide sulfurique. VANDERLINDEN, qui a étudié la localisation de ce composé au moyen des deux précédents réactifs, admet qu'il se trouve principalement dans les cellules épidermiques des écailles recouvrant les bourgeons souterrains.

D'autre part, dans les mêmes cellules, l'iodure de potassium iodé donne un précipité brun kermès, l'iodure double de mercure et de potassium un précipité grisâtre, l'acide phosphomolybdique un précipité jaune pâle.

L'auteur croit pouvoir conclure à l'existence, dans l'*Adonis vernalis* L., d'un *gluco-alcaloïde*.

L'*A. vernalis* L., d'après VANDERLINDEN, ne renfermerait ni alcaloïde ni glucoside.

### 5. — Helléborine, Helléboréine.

Les Hellébore renferment deux glucosides peu connus : l'*Helléborine*, découverte par BARTICK, et l'*Helléboréine* (HUSEMANN et MARMÉ).

L'*Helléboréine* est très soluble dans l'eau, peu soluble dans l'alcool, presque insoluble dans l'éther; elle se dédouble sous l'influence des acides sulfurique ou chlorhydrique en *Glucose* et *Helléborétine*.

L'*Helléborine* est insoluble dans l'eau, très peu soluble dans l'éther, soluble dans l'alcool et le chloroforme; les acides étendus la dédoublent en *Glucose* et *Helléborésine*.

**Caractères microchimiques.** — Avec l'*acide sulfurique concentré*, l'helléboréine se colore en jaune d'or et peu à peu en rouge brun; dans les mêmes conditions, l'helléborine donne une coloration rouge cerise devenant rapidement violette.

La localisation de ce glucoside a été faite par L. SAUVAN<sup>(1)</sup>, au moyen de l'acide sulfurique pur, par VANDERLINDEN<sup>(2)</sup>, qui n'a pas eu connaissance du travail de son prédécesseur, et tout dernièrement par LUISA CUOGHI-COSTANTINI<sup>(3)</sup>.

La technique de VANDERLINDEN nous paraît sujette à caution. Il a eu recours aux réactifs préconisés par MOLISCH pour la recherche des hydrates de carbone solubles : l'*α-naphtol* ou le *thymol* en solution alcoolique et additionnés d'*acide sulfurique concentré*. Cette technique a été également suivie par LUISA CUOGHI-COSTANTINI.

Sur des coupes, on fait agir une solution alcoolique d'*α-naphtol* à 15-20 p. 100. On ajoute ensuite deux gouttes d'*acide sulfurique concentré*. Si le tissu renferme du saccharose, du lactose, du glucose, du lévulose, il se produit instantanément une coloration violette avec le naphtol, rouge carmin avec le thymol. L'inosite, la mannite, la quercite ne donnent pas cette réaction.

Avec des glucosides, il se produit les mêmes colorations, mais la réaction est plus lente (dix à quinze minutes). Ce retard provient de ce que l'acide sulfurique doit mettre en liberté le glucose des glucosides.

NICKEL<sup>(4)</sup> a fait une sérieuse objection à cette méthode en montrant que les matières protéiques, la créatine, la vanilline, peuvent, avec l'acide sulfurique, produire du furfural de la même façon que les hydrates de carbone et, par suite, donner la réaction de MOLISCH. L'amidon, la cellulose de la plante pourraient aussi s'hydrolyser et donner un hydrate de carbone soluble capable de produire la réaction. Toutefois, VANDERLINDEN fait remarquer que ces réactions appliquées aux tiges renfermant de l'amidon et de la cellulose restent négatives, alors que dans les mêmes conditions les racines ou les rhizomes se colorent. C'est là, dit-il, une réaction propre à un ou plusieurs glucosides.

**Répartition des glucosides Helléborine et Helléboréine dans l'*Helleborus niger* L.** — Les résultats suivants sont dus à L. SAUVAN; ils diffèrent énormément de ceux de VANDERLINDEN, aussi croyons-nous

1. L. SAUVAN : Localisation des principes actifs dans les végétaux. *Journ. Bot.*, 10, 160, 1895.

2. VANDERLINDEN : *Loc. cit.*

3. M<sup>me</sup> LUISA CUOGHI-COSTANTINI : *Loc. cit.*

4. EM. NICKEL : Die Farbenreactionen der Kohlenstoffverbindungen, 2<sup>e</sup> Aufl., 32, 1890.

que la méthode de localisation au moyen de l'acide sulfurique et de l' $\alpha$ -naphтол doit être employée avec circonspection.

A l'action de l'acide sulfurique pur employé par L. SAUVAN, qui n'est pas toujours extrêmement nette, nous préférons personnellement celle du réactif de MANDELIN préparé avec  $\text{SO}_4\text{H}_2 + \text{H}_2\text{O}$ . On obtient la coloration rouge comme avec l'acide sulfurique pur, mais l'action du réactif sur la coupe est moins brutale. Malgré cela, cette méthode de localisation laisse encore beaucoup à désirer.

L'acide sulfurique, additionné soit de sulfate de cérium, soit de molybdate d'ammoniaque, ne donne aucune coloration.

*Racine.* — L'helléboréine ne peut être caractérisée dans toutes les espèces d'*Helleborus*. Dans les espèces qui donnent une réaction positive, quelques cellules du parenchyme cortical la donnent seules.

L'helléborine, au contraire, est assez abondante dans cet organe et se trouve située au pourtour du faisceau libérien et dans le parenchyme cortical, surtout au voisinage du liber.

Dans la racine et le rhizome, l'iodure de potassium iodé donne un précipité dû aux matières albuminoïdes, car il se produit également après séjour des coupes dans l'alcool tartrique.

*Rhizome.* — Le rhizome est plus riche en principes toxiques que la racine. L'helléborine et l'helléboréine se trouvent localisées aux mêmes endroits que dans la racine.

*Tige.* — Dans la tige, l'helléboréine est surtout abondante dans l'épiderme et les assises sous-épidermiques. L'helléborine, au contraire, est plus spécialement située dans le parenchyme cortical, au voisinage du liber. En un mot, l'helléboréine se trouve de préférence vers les parties externes, tandis que l'helléborine aurait tendance à rester dans la partie la plus interne de l'organe.

*Feuille.* — Dans la pétiole, la répartition est la même que dans la tige.

Dans le limbe, l'helléboréine peut seule être caractérisée dans le parenchyme chlorophyllien et les cellules épidermiques. L'épiderme supérieur donne des réactions plus intenses que l'épiderme inférieur, et, d'après L. CUOGHI-COSTANTINI, principalement les cellules placées au-dessus des nervures.

*Fleur.* — Les pétales et les sépales contiennent les deux glucosides dans toutes leurs cellules, mais l'helléboréine est plus exclusivement située dans les parties périphériques, l'helléborine occupant les plus internes. Les étamines et l'ovaire contiennent également les deux glucosides dans toutes leurs cellules.

*Graine.* — La graine est très riche en principe actif; l'helléboréine est plus abondante dans les assises voisines de la périphérie; l'helléborine, au contraire, se localise en plus grande quantité dans les parties

centrales de l'albumen. L'embryon est moins riche en glucoside que l'albumen.

Les téguments séminaux semblent ne renfermer que l'helléboréine.

A côté de ces principes, et principalement de l'helléborine, on trouve un corps non toxique se colorant en violet, puis en bleu verdâtre par l'acide sulfurique concentré.

Dans *H. niger* L., *H. fœtidus* L., *H. antiquorum* A. Br., *H. lividus* Soland., *H. caucasicus* A. Br., *H. pallidus* Host., l'helléboréine est plus abondante que l'helléborine; le contraire se rencontre si l'on s'adresse aux *H. viridis* L., *H. orientalis* Lam., *H. brevicaulis* Jord. et Fourr., *H. caucasicus* A. Br., var. *germanicus*.

## RUTACÉES

### 1. — Rutine.

La Rutine a été trouvée par WEISS dans la Rue (*Ruta graveolens* L.), puis dans d'autres végétaux : *Capparis spinosa* L., *Sophora japonica* L., *Fagopyrum divers* (WISCHO, MIÈGE).

Elle cristallise en aiguilles jaunes, insolubles dans l'eau froide, solubles dans l'eau bouillante, l'alcool. Elle se dédouble en deux molécules de Rhamnose et Quercétine. Elle n'est pas dédoublable par l'émulsine.

Sa formule n'est pas encore bien établie. Certains auteurs, HLASIVETZ en particulier, l'identifient au *Quercitrin*, tandis que d'autres, WISCHO, WENGER et DRONKE, la considèrent comme distincte.

**Caractères microchimiques.** — L'ammoniaque, les alcalis et carbonates alcalins en solution aqueuse, l'eau de baryte ou l'eau de chaux colorent la rutine en jaune. La solution ainsi obtenue brunit à l'air par oxydation.

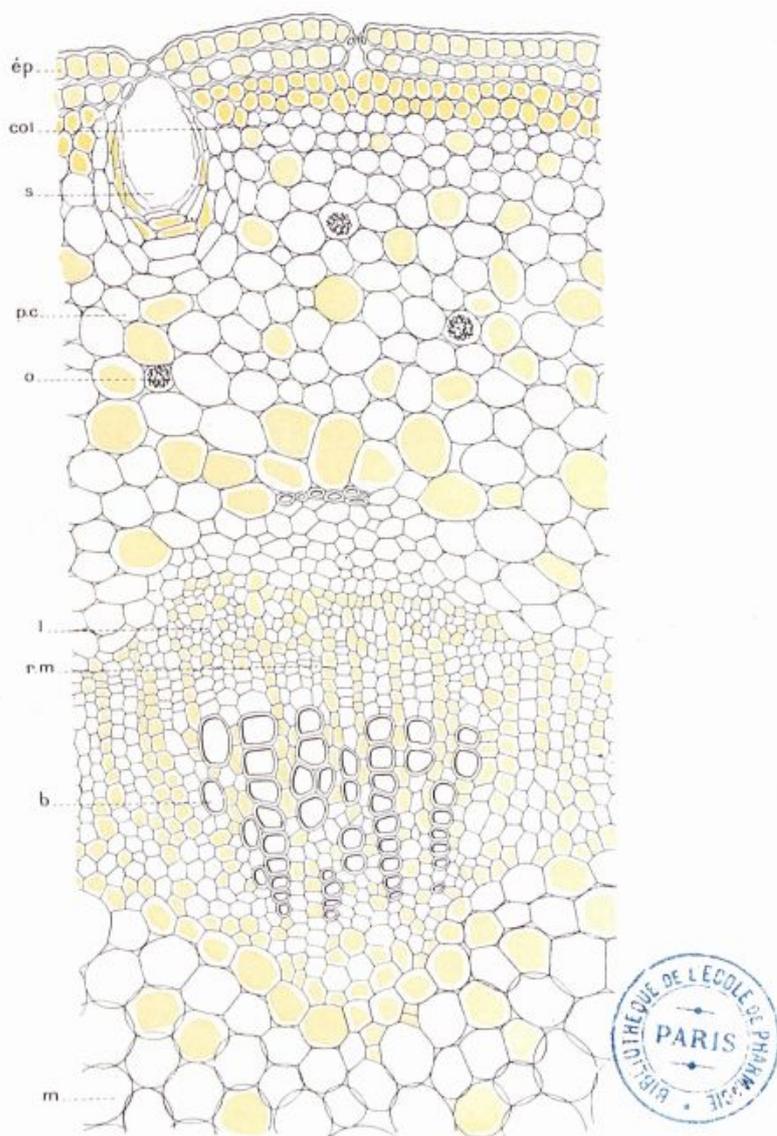
**Méthodes de localisation.** — La localisation de la rutine a été faite par HERMANN (1) dans le *Ruta graveolens* L., mais la technique a surtout été étudiée par EM. MIÈGE (2) pour la localisation de ce glucoside dans le *Fagopyrum esculentum* Moench.

MIÈGE fait remarquer que l'eau ammoniacale, l'eau de baryte ou l'eau de chaux à saturation sont trop concentrées pour donner de bonnes préparations; on obtient une coloration jaunâtre qui imprègne tous les tissus, y compris le collenchyme et les éléments ligneux.

Après de nombreux tâtonnements, MIÈGE a obtenu les meilleurs résultats en employant l'une des solutions suivantes :

1. O. HERMANN: Nachweis organ. Verbindungen in veget. Geweben. *Dissert.* Leipzig, 1876.

2. EM. MIÈGE: Recherches sur les principales espèces de *Fagopyrum*. *Th. D. Sc.*, Paris, 379, 1910.



PIAULT, del.

BONARD, sc.

*Ruta graveolens* L. ; répartition du glucoside dans la tige.



Ammoniaque, 10 gouttes dans 100 centimètres cubes d'eau distillée; Eau de baryte ou eau de chaux, 1 partie, eau distillée bouillie, 2 parties; et en montant les préparations dans l'eau salée pour plasmolyser le contenu cellulaire, avant de faire agir le réactif.

**Répartition de la Rutine dans le *Ruta graveolens* L.** — Dans le *Ruta graveolens* L., HERMANN trouve la rutine dans les organes suivants :

*Racine.* — La réaction apparaît dans les cellules du parenchyme cortical, dans les rayons médullaires de la zone libérienne. Les rayons médullaires du bois se colorent peu et seulement dans la partie limitrophe du cambium. Le parenchyme libérien est pauvre en rutine. Les éléments sclérifiés du bois et du liber n'en renferment pas.

*Tige.* — Dans une tige bien développée, la réaction se fait dans les cellules du parenchyme de l'écorce, principalement dans la partie périphérique riche en chlorophylle, dans quelques cellules libériennes, dans les rayons médullaires et dans la moelle, surtout à la périphérie du bois; les cellules situées au centre de la moelle se colorent à peine (Pl. XXII).

*Feuille.* — La nervure médiane, le parenchyme chlorophyllien et le collenchyme sous-épidermique sont les tissus les plus riches en glucoside. On en trouve aussi dans les rayons médullaires, les zones endodermique et périodermique.

## 2. — Hespéridine.

L'Hespéridine est très répandue dans les divers organes des Auran-tiacées. C'est un glucoside cristallisant en fines aiguilles insolubles dans l'eau, l'alcool froid, l'éther, la benzine, le chloroforme, le sulfure de carbone, solubles dans l'alcool bouillant, l'acide acétique, les solutions alcalines.

L'hespéridine se dédouble sous l'action des acides en *Glucose*, *Rhamnose* et *Hespéretine* :



Elle existe sur tout dans l'orange amère, à côté d'un isomère, l'*Isohespéridine*, qui se dédouble en donnant les mêmes produits que l'hespéridine.

**Caractères microchimiques.** — Les réactions caractéristiques de ce corps sont les suivantes :

- 1° Le perchlorure de fer lui donne une coloration rouge brun;
- 2° L'acide sulfurique concentré lui communique une coloration rouge;
- 3° La potasse le colore en jaune faible.

**Méthode de localisation et Répartition de l'Hespéridine dans le genre *Citrus*.** — PFEFFER (1) a établi le siège de ce glucoside dans les

1. PFEFFER : Hesperidin, ein Bestandteil einiger Hesperideen. *Bot. Zeit.*, **32**, 529-539, 1874.

*Citrus*. L'hespéridine est, comme l'inuline, contenue dans les cellules à l'état de solution et souvent en très grande quantité. Si donc on laisse les matériaux dans l'alcool, l'hespéridine cristallise très souvent sous forme de sphéro-cristaux, dans les cellules qui la contenaient en solution. LEBRETON (1) avait déjà signalé cette particularité en 1828.

Ces cristaux sont facilement visibles ; si on les traite par les réactifs indiqués plus haut, et plus particulièrement par les solutions alcalines, les colorations obtenues ne laissent plus de doute sur leur nature.

L'auteur a trouvé, de cette façon, que les tissus de la tige, des organes foliacés et du péricarpe, renfermaient de l'hespéridine. Son travail est bien incomplet (ce qu'il reconnaît d'ailleurs) en ce qui concerne la répartition de ce glucoside dans les différents *Citrus*. Les *C. Aurantium* L., *C. Limetta* Risso, renfermeraient de l'hespéridine, tandis qu'il n'y en aurait pas dans les *C. vulgaris* Risso, *C. decumana* Murr., *C. Bigaradia* Lois.

Depuis, on a rapporté à l'hespéridine la formation de sphéro-cristaux dans de nombreuses plantes, sous l'action de l'alcool ou de la glycérine.

C'est ainsi que MEYER (2) a décrit la formation de sphéro-cristaux dans les organes du *Conium maculatum* L., fait confirmé depuis par O. TUNMANN (3).

HARTWICH (4) a trouvé des sphéro-cristaux dans la galle d'Alep.

En 1896, A. VOGL (5) constate la présence d'hespéridine dans les organes du *Scrophularia nodosa* L. Les feuilles du *Pilocarpus Jaborandi* Holmes, les poils que l'on rencontre sur les étamines de *Verbascum*, les poils des pétales latéraux de la Pensée, *Viola tricolor* L., les feuilles du *Lythrum Salicaria* L., du *Vicia Faba* L., du *Calamintha Acinos* Clairv., réagissent de même. TSCHIRCH (6) a fait la même constatation pour les feuilles de *Mentha*, MITLACHER (7) pour celles de *Teucrium* et de *Satureia* et O. TUNMANN (8), pour l'*Hyssopus officinalis* L. L. BRÆMER (9) les a également signalés dans les feuilles de *Buchu* (*Barosma crenulata* Hook., *B. crenata* Sweet).

1. LEBRETON : Note sur la matière cristallisée des orangettes et analyse de ces fruits non encore développés. *Journ. de Pharm.* (2s.), 14, 377-392, 1828.

2. ADOLF MEYER : Anatom. Charakteristik officineller Blätter und Kräuter. Halle, 1882.

3. O. TUNMANN : Ueber kristalle in Herba Conii. *Pharm. Zeit.*, 50, 1055-1057, 1905.

4. HARTWICH : Übersicht der technisch und pharmaceutisch verwendeten Gallen. *Arch. d. Pharm.*, 221, 821, 1883.

5. A. VOGL : Ueber folia Jaborandi. *Zeitschr. d. allg. öst. Apothek. Vereines*, 34, 1, 1896.

6. TSCHIRCH et CESTERLE : Anat. Atlas, 1895.

7. MITLACHER : Ueber einige anatomische Verhältnisse der Labiaten. *Zeitschr. d. allg. öst. Apothek. Vereines*, 46, 46, 1908.

8. O. TUNMANN : *Hyssopus officinalis* L. *Zeitschr. d. allg. öst. Apothek. Vereines*, 44, 407, 1906.

9. L. BRÆMER : Les réactions histo-chimiques et l'hespéridine. *Assoc. avanc. des Sc.*, Besançon, 482-484, 2 fig., 1893, 2<sup>e</sup> part.

O. TUNMANN<sup>(1)</sup> n'ose affirmer qu'il s'agit dans tous les cas de l'hespéridine, mais il croit que la formation de ces sphérocristaux est bien due à la précipitation de corps voisins de ce glucoside, peut-être même de l'isohespéridine. Jusqu'alors on n'a pas encore isolé l'hespéridine de ces diverses plantes. Toutefois, du *Conium maculatum*, L. MODRAKOWSKY<sup>(2)</sup> a retiré un corps fondant à 270° qu'il croit être l'hespéridine, bien que le point de fusion de ce glucoside soit de 251° (TIEMANN).

Dans les bractées du Tilleul (*Tilia sylvestris* Desf.), on trouve des sphérocristaux que TSCHIRCH<sup>(3)</sup> regarde comme du sucre, mais que O. TUNMANN<sup>(4)</sup> rapporte à l'hespéridine. On trouve ces cristaux dans chaque cellule épidermique des bractées du Tilleul, dans quelques cellules épidermiques des feuilles, du pétiole, de la tige et dans le pédoncule floral. Il n'y en a pas dans la fleur.

Ces cristaux existent rarement dans le produit commercial. Pour les observer, il faut prendre la plante fraîche et monter les préparations dans l'eau, la glycérine, la solution d'hydrate de chloral ou l'alcool. Les cellules sont d'abord remplies d'un suc cellulaire jaune et la masse protoplasmique est accolée aux parois cellulaires. Au contact de l'eau ou de la glycérine, il se sépare du suc cellulaire de petites gouttelettes réfringentes analogues à des globules d'huile ou d'essence. Ces gouttelettes se réunissent l'une à l'autre, si bien que très rapidement on trouve, au centre de la cellule, une grosse goutte de couleur jaunâtre, entourée par la masse protoplasmique plus ou moins plasmolysée. Après quelques instants, la goutte se transforme en un sphérocrystal, avec un espace vide au centre même du cristal. Souvent, ce sphérocrystal est entouré d'une masse non cristallisée. Si l'on ajoute de la soude ou de la potasse, ou de l'acide sulfurique, ces cristaux se dissolvent tout de suite.

L'eau de chaux est le réactif qui permet le mieux de se rendre compte de la structure de ces cristaux. Leur aspect radié apparaît très nettement, puis, peu à peu, ils se dissolvent, tandis que la masse amorphe qui les entoure reste insoluble. (Fig. 6, 1, 2.)

D'après TUNMANN, cette couche protectrice entraverait l'action des réactifs sur les cristaux, et expliquerait la différence des réactions obtenues avec l'hespéridine pure et ces sphérocristaux, et plus particulièrement avec les cristaux qui affectent la forme de sablier.

Si l'on fait bouillir les préparations dans l'eau, la glycérine ou

1. O. TUNMANN : Ueber die Kristallauscheidungen einigen Drogen (Hesperidine) und über physiologische Bedeutung dieser Körper. *Scheiz. Woch. f. Chem. u. Pharm.*, 47, 777-782; 793-797, 1909.

2. MODRAKOWSKI : Ueber das Hesperidin in *Conium maculatum* L. *Polnisches Arch. f. biol. u. mediz. Wissenschaften*, 3, 1905.

3. TSCHIRCH et OESTERLE : *Anat. Atlas*, 42.

4. O. TUNMANN : *Loc. cit.*, 778.

l'hydrate de chloral, on obtient, au lieu de sphérocristaux, des houppes cristallines ou des cristaux isolés incolores. Ces cristaux sont très longs; ils dépassent même les dimensions des cellules et empiètent parfois sur les cellules voisines. Ils se dissolvent plus rapidement que les sphérocristaux dans les solvants de l'hespéridine, mais tous deux donnent des réactions identiques (Fig. 6, 5).

Dans les poils des étamines des *Verbascum* on trouve des cristaux que SENFT (1) prétend être du sucre, mais que A. VOGL rapporte à l'hespéridine. Ces cristaux sont surtout nombreux dans la plante fraîche et plus particulièrement dans le *V. thapsiforme* Schrad. Leur nombre n'est pas

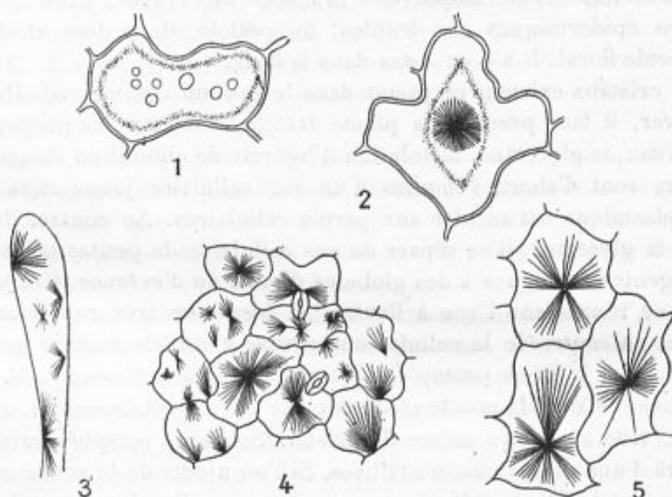


FIG 6. — Localisation de l'hespéridine, d'après O. TUNMANN; 1, 2, action de la glycérine sur les cellules des bractées du Tilleul; 3, 4, 5, action de l'eau bouillante sur les poils du *Verbascum*, l'épiderme des feuilles d'*Hyssopus*, les bractées du Tilleul.

plus élevé dans les poils complètement développés que dans les poils jeunes.

Les cristaux des poils des *Verbascum* ne se dissolvent pas dans l'eau bouillante, la solution de chloral, les acides dilués; ils se dissolvent difficilement dans l'eau de chaux, l'acide acétique, l'aniline, l'ammoniaque. Les solutions de potasse ou de soude les dissolvent rapidement en donnant une coloration jaune. L'acide sulfurique les colore à peine en jaune et ce caractère les distingue un peu de l'hespéridine.

En faisant bouillir les préparations dans l'eau ou la solution de

1. SENFT : Zum mikrochemischen Nachweise des Zuckers. *Sitz. d. Wiss., Akad., Wien*, 113, Abt I, 3-27, 1904.

chloral, on obtient, comme pour les bractées du Tilleul, des houppes cristallines ou de longs cristaux isolés (Fig. 6, 3).

Lorsqu'on met des tiges fraîches d'*Hyssopus officinalis* L. dans de l'alcool, il se forme peu à peu des sphérocristaux dans l'épiderme et, çà et là, dans le mésophylle. Par ce procédé, on trouve des lambeaux entiers d'épiderme sans cristaux, tandis que dans d'autres il y en a de véritables amas. Pour obtenir une meilleure localisation, O. TUNMANN indique le mode opératoire suivant : la préparation épidermique de plante fraîche est placée dans un peu d'alcool qu'on laisse évaporer lentement; on trouve alors les cristaux non plus groupés par plages, mais dans chaque cellule épidermique. Leur forme varie suivant les conditions dans lesquelles s'est faite la cristallisation.

Dans l'*Hyssopus*, les cristaux se trouvent surtout dans l'épiderme supérieur des feuilles bi-faciales, ou dans les deux épidermes des feuilles centriques. La corolle est très riche en sphérocristaux et, dans les feuilles cotylédonaire, ils sont aussi nombreux que dans les feuilles normales bien développées. Ces sphérocristaux sont, comme ceux du Tilleul, entourés d'une couche non cristallisée de nature chimique indéterminée (Fig. 6, 4).

Ces cristaux sont, comme les précédents, insolubles dans l'eau froide, l'eau chaude, l'alcool, l'éther, le chloroforme, la solution de chloral, l'acide acétique, l'ammoniaque. Ils sont solubles dans les solutions alcalines, l'eau de baryte, l'acide sulfurique concentré. Leur insolubilité dans l'acide acétique et l'ammoniaque les distingue un peu de l'hespéridine.

Le *Capsella Bursa pastoris* Medec., traité de la même façon, donne également des cristaux semblables (O. TUNMANN).

Dans le *Scrophularia nodosa* L. frais, A. VOGL a signalé la présence de cristaux qui ne se produisent pas dans les échantillons desséchés. Le contact de ces plantes avec l'alcool ou la glycérine augmente le nombre des sphérocristaux. On les trouve surtout dans les cellules épidermiques supérieures et dans les cellules du mésophylle, le parenchyme cortical de la tige, le tissu du calice et surtout les parois carpelaires où ils sont très nombreux et faciles à examiner. Ces sphérocristaux ont l'aspect de sphères ou de doubles sphères et présentent une structure radiée très nette. Ils sont, comme ceux des végétaux cités précédemment, insolubles dans l'eau, l'alcool, l'acide acétique, l'acide chlorhydrique, la solution de chloral. Ils se dissolvent dans la potasse ou la soude. Le perchlorure de fer ne semble pas les colorer.

Les feuilles de *Lythrum Salicaria* L., sous l'action de l'alcool, de la glycérine, de la solution d'hydrate de chloral, donnent des cristaux analogues (A. VOGL). Le même auteur a également signalé des sphérocristaux dans les épidermes des feuilles du *P. Jaborandi* Holmes. Le *P. pennatifolius* Lem. en contient également, mais en moins grande quantité.

## TÉRÉBINTHACÉES

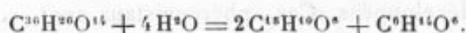
## Fustine.

La *Fustine* est un glucoside que l'on rencontre dans le *Rhus Cotinus* L. ou *bois de Fustet*. D'après SCHMIDT (1), elle s'y trouverait combinée à un tannin spécial.

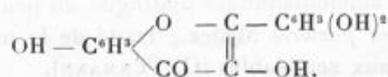
C'est un corps cristallisant en longues aiguilles blanches, fusible vers 218-219°, facilement soluble dans l'eau bouillante, l'alcool et les alcalis dilués, peu soluble dans l'éther.

Elle précipite par l'acétate de plomb, le chlorure d'étain, et ces précipités sont solubles dans l'acide acétique.

Par hydrolyse sous l'influence d'un acide dilué, la fustine se dédouble en *Rhamnose* et *Fisétine* :



La *Fisétine* cristallise en aiguilles jaune citron; elle est presque insoluble dans l'eau froide, plus soluble dans l'eau chaude, soluble dans l'alcool, l'acétone, l'éther acétique; elle est peu soluble dans l'éther, la benzine et le chloroforme. La fisétine réduit la liqueur de Fehling. Sa formule est la suivante :

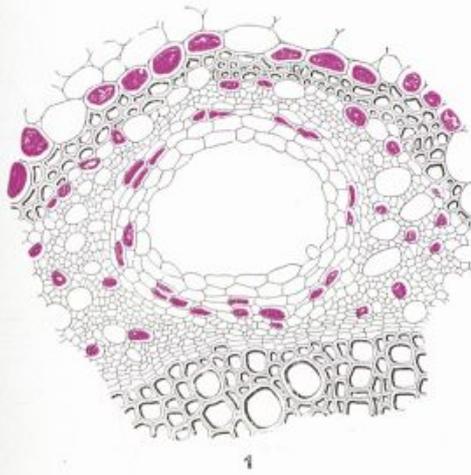


ce qui en fait un dérivé de l'*isocoumarine*.

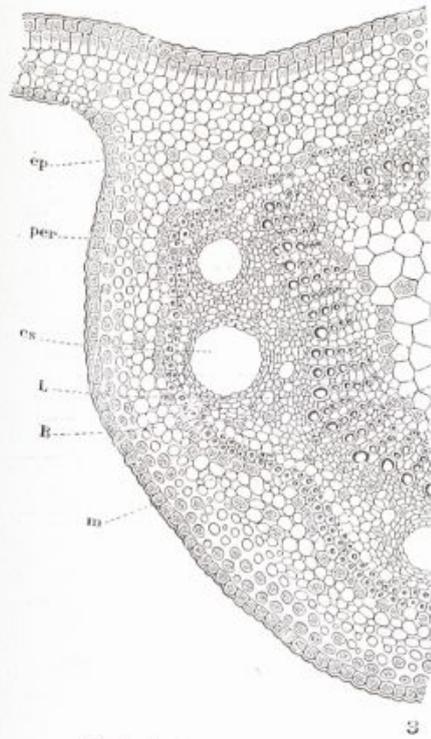
**Caractères microchimiques et localisation de la Fustine.** — La fustine est un glucoside que l'on ne peut pas se procurer facilement et qui, d'ailleurs, a été peu étudié; mais comme c'est un dérivé de la coumarine, et que sa constitution la rapproche de l'esculine, nous avons essayé la réaction de SONNENSCHNIG, employée pour la localisation de ce glucoside. La fustine traitée par l'acide azotique et l'ammoniaque donne une coloration rouge. Cette réaction est susceptible d'application microchimique (2), car les coupes traitées par le réactif de SONNENSCHNIG pendant trois ou quatre secondes, plongées ensuite dans l'ammoniaque pour être examinées tout aussitôt, donnent une très belle localisation de couleur rouge faible.

1. SCHMIDT : *Ber. d. d. chem. Gesell.*, 1886, **19**, 1734

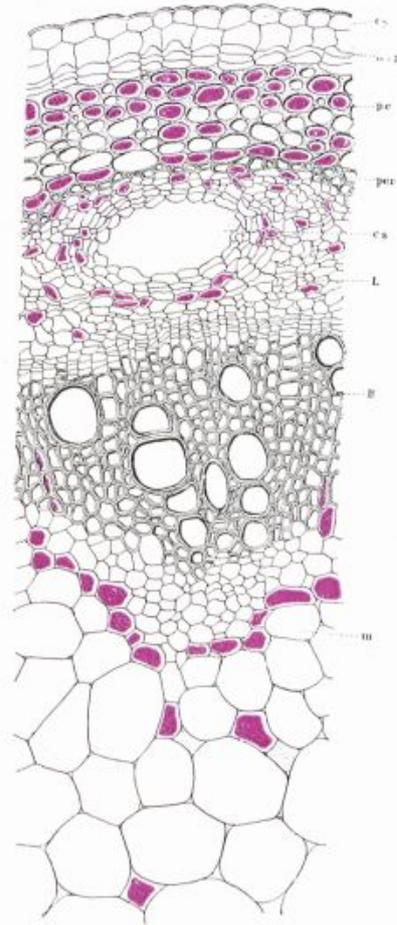
2. A. GORIS : *Recherches microchimiques sur quelques glucosides et quelques tanins végétaux. Th. Doct. Sc., Paris*, 86-90, 1903.



1



3



2

D'après A. GORIS.



BONARD, SC.

*Rhus Cotinus* L. ; 1, endoderme et liber du pétiole ; 2, jeune rameau ; 3, feuille.



**Répartition du glucoside dans le *Rhus Cotinus* L. — Tige.** — La fustine se répartit surtout dans les premières assises du phelloderme, l'endoderme, les rayons médullaires, et aussi le parenchyme libérien. Dans la moelle, au pourtour des faisceaux, il existe une ligne continue de cellules qui se colorent en rouge et séparent pour ainsi dire la moelle des faisceaux ligneux (Pl. XXIII, 1, 2).

**Feuille.** — Dans le limbe, l'épiderme supérieur donne une réaction beaucoup plus intense que l'épiderme inférieur. Le parenchyme palissadique, l'endoderme des faisceaux, quelques rares cellules du mésophylle, sont les lieux d'élection du glucoside.

Dans la nervure médiane, la fustine se trouve en petite quantité dans tous les parenchymes, mais particulièrement dans les épidermes, l'endoderme et les cellules périodermiques avoisinant le bois. Il n'y a pas de glucoside dans les cellules de bordure des canaux sécréteurs. Ce composé ne se trouve que dans la troisième ou quatrième assise des cellules entourant le canal sécréteur (Pl. XXIII, 3).

Les cellules contenant la fustine renferment toutes un corps donnant les réactions du tanin. Il faut donc admettre que le glucoside se trouve dans la plante à l'état de combinaison avec un tanin spécial, confirmant ainsi l'opinion émise précédemment par SCHMIDT et basée sur des analyses chimiques.

## CORIARIACÉES

### Coriamyrtine.

La *Coriamyrtine* a été retirée par RIBAN du *Coriaria myrtifolia* L. C'est un corps peu soluble dans l'eau, le sulfure de carbone; soluble dans l'alcool, l'éther, le chloroforme et la benzine.

Par hydrolyse, elle donne du *Glucose* et une *matière résineuse*.

**Localisation et Répartition de la Coriamyrtine.** — VILLENEUVE (1) a étudié la répartition de ce glucoside au moyen de deux réactions colorées :

1° Lorsqu'on fait macérer quelques instants des coupes dans l'eau de *Javel*, les cellules à coriamyrtine prennent une coloration jaune brun, les autres se décolorent;

2° Les coupes sont déposées dans une goutte d'*acide iodhydrique* ordinaire; on chauffe jusqu'à évaporation complète de la liqueur. On imbibe ensuite la coupe d'une goutte d'alcool, qui s'évapore rapidement; on ajoute alors une goutte de *soude caustique*. Les cellules à coriamyrtine

1. VILLENEUVE : Etude sur le Redoul (*Coriaria myrtifolia*). *Th. pharm.*, Montpellier, 1893.

se colorent en rouge brun très foncé, les autres cellules restent colorées en jaune.

Cette dernière réaction de la coriamyrtine a été indiquée par RIBAN; avec le glucoside pur, *in vitro*, la coloration obtenue est d'un rouge rappelant les solutions de fuchsine.

Le glucoside se trouve principalement situé dans l'endoderme des tiges et des feuilles.

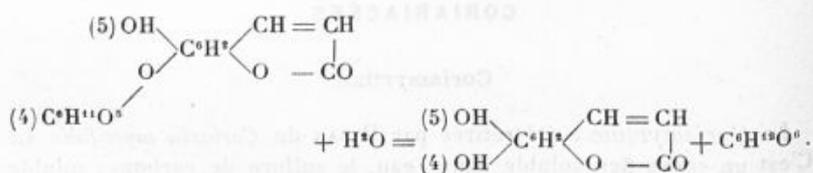
## SAPINDACÉES

### Esculine.

L'*Esculine*, découverte par MINOR, est un glucoside non azoté que l'on retire de l'écorce du Marronnier d'Inde (*Æsculus Hippocastanum* L.). Sa composition est très bien connue depuis les travaux de SCHIFF, LIEBERMANN, TIEMANN, etc. C'est un dérivé d'une dioxycoumarine.

L'esculine est un corps blanc, cristallisé en aiguilles prismatiques, peu soluble dans l'eau froide, plus soluble dans l'eau bouillante. Il est insoluble ou peu soluble dans l'alcool et l'éther, très soluble, au contraire, dans l'acide acétique et l'éther acétique.

Ce glucoside se dédouble en *Glucose* et *Esculétine* :



**Caractères microchimiques.** — De ses propriétés, nous ne retiendrons que celles qui sont susceptibles d'applications en microchimie :

- 1° La précipitation par l'*acétate basique de plomb*;
- 2° La réduction de la *liqueur de FEHLING*, après dédoublement de l'esculine en glucose et esculétine par l'acide chlorhydrique dilué ou l'émulsine, à 30-35 degrés;
- 3° La coloration rouge violacée qu'elle prend si on la traite par l'*acide azotique* et, aussitôt après, par l'*ammoniaque*.

Cette réaction a été indiquée par SONNENSCHNEIN.

**Méthodes de localisation.** — Ces trois réactions nous ont servi pour nos recherches de localisation de ce glucoside, mais la réaction de SONNENSCHNEIN est la seule qui donne des résultats satisfaisants.

L'emploi de l'*acétate basique de plomb* est très facile. Les coupes, aussitôt faites, sont plongées dans l'extrait de Saturne et y sont laissées

de cinq à quinze minutes. On les retire ensuite et on les lave à l'eau distillée récemment bouillie. Dans toutes les cellules à esculine, on trouve un précipité blanc, abondant, opaque, facilement visible parce qu'il tranche sur le reste de la préparation. On peut mettre plus facilement en évidence cette localisation en effectuant une double décomposition entre le précipité plombique et l'iodure de potassium, ou le chromate de potasse, ou même, mieux, le sulfhydrate d'ammoniaque très dilué. Il suffit pour cela de porter les coupes, au sortir du lavage à l'eau privée de gaz carbonique, dans une solution d'iodure de potassium à 1/10 ou de chromate de potasse à 5/100. Si l'on emploie le sulfhydrate, une goutte du réactif dans 10 centimètres cubes d'eau donnera une dilution suffisante. Dans ce cas, les cellules à esculine sont colorées en noir et le reste de la préparation en marron clair.

Malgré son emploi facile, l'acétate basique de plomb est, dans ce cas, un réactif médiocre; il ne donne que des résultats incertains, car il précipite également les matières protéiques et les tanins.

L'emploi de la *liqueur de Fehling*, sans toutefois permettre de localiser l'esculine, donne quelques résultats intéressants.

L'esculine ne réduit la liqueur de FEHLING qu'après dédoublement préalable par l'acide chlorhydrique ou l'émulsine.

On pourrait, par cette réaction, essayer de localiser l'esculine.

Malheureusement, il existe dans le Marronnier un corps capable, lui aussi, de réduire la liqueur de FEHLING : c'est l'acide esculitannique. Dès lors, si l'on veut tenter la localisation de l'esculine au moyen de ce réactif, il faudra d'abord faire agir sur une coupe la liqueur de Fehling; la précipitation d'oxyde de cuivre dans les cellules donnera le lieu d'élection de l'acide esculitannique. Une opération semblable, faite sur une coupe préalablement traitée par l'acide chlorhydrique ou l'émulsine, donnera une répartition nouvelle du précipité d'oxydure de cuivre : elle correspond à la répartition de l'esculine et de l'acide esculitannique. En comparant les deux préparations, on pourra essayer de déterminer le lieu d'élection du glucoside.

Pratiquement, les choses ne se passent pas aussi facilement que la théorie le prévoit. Tout d'abord, le premier inconvénient consiste en ce que la liqueur de FEHLING est trop alcaline et altère rapidement les préparations. On peut, il est vrai, tourner la difficulté en employant la *liqueur d'Ost*, liqueur cupropotassique où la potasse est remplacée par du carbonate de potasse.

On dissout 30 grammes de poudre d'Ost (\*) dans de l'eau, pour faire 90 centimètres cubes. On obtient ainsi une solution très visqueuse qui,

1. Carbonate de potasse, 250 grammes; bicarbonate de potasse, 100 grammes; sulfate de cuivre pulvérisé, 25 grammes.

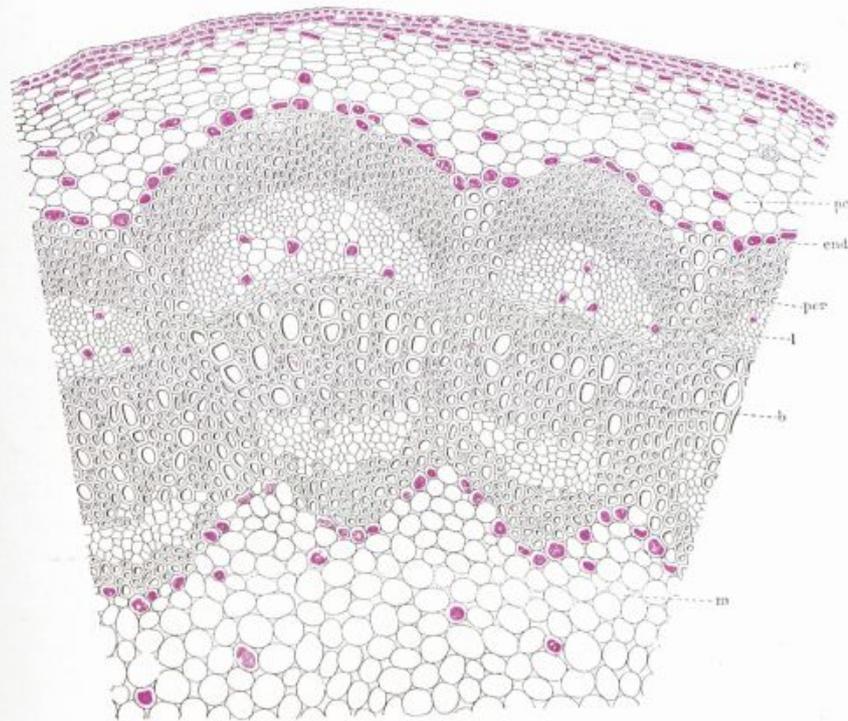
déposée sur la lame ou dans un verre de montre, forme un ménisque très accentué. Les coupes sont mises dans ce liquide bouillant, et l'ébullition est prolongée pendant deux à cinq minutes sans inconvénient. Au fur et à mesure que l'eau s'évapore, on a grand soin d'ajouter de nouvelles quantités de liqueur cupropotassique. Cette ébullition, en milieu excessivement concentré, est favorable à une bonne localisation; la substance à localiser ne peut diffuser que très lentement, et on obtient ainsi un précipité franchement localisé dans la cellule. On peut aussi opérer dans un verre de montre dans lequel on met 4 à 5 grammes de poudre d'Ost et quelques grammes d'eau. On obtient également une très bonne localisation.

En possession d'une technique qui permet facilement la formation du précipité d'oxydure de cuivre sans avoir les inconvénients d'une liqueur trop alcaline, il est facile d'obtenir des préparations de la plus grande netteté. Pour obtenir la réaction due à l'esculine, les coupes, mises dans une goutte d'eau acidulée par l'acide chlorhydrique, sont portées à l'ébullition et retirées de seconde en seconde pour être mises dans la liqueur d'Ost bouillante. Dans tous les cas, même dans les préparations qui n'ont subi le contact de l'eau acidulée que pendant une seconde, on n'obtient jamais de précipité d'oxydure de cuivre. L'acide esculitannique et l'esculine ont disparu par dissolution dans le liquide employé.

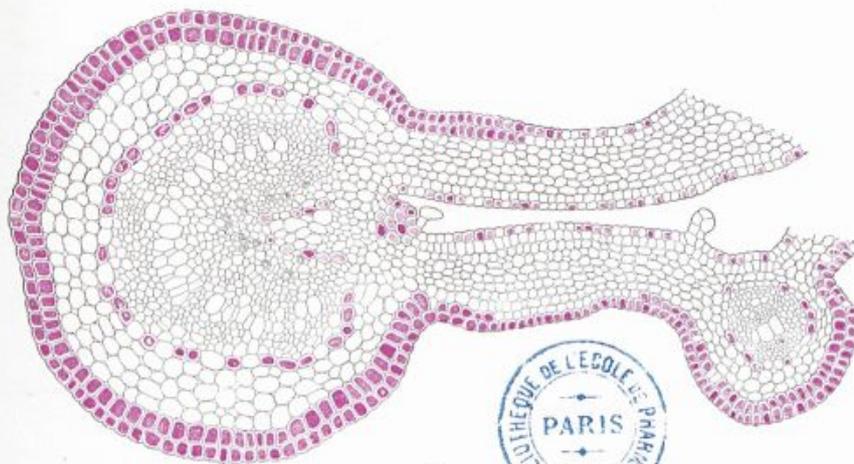
Si l'on essaie d'effectuer le dédoublement de l'esculine par l'émulsine, le résultat obtenu est tout différent. L'expérience est faite de la façon suivante : des coupes de pétiole sont disposées dans une boîte de Pétri contenant quelques gouttes d'eau, tenant en suspension une assez grande quantité d'émulsine; le tout est placé à l'étuve à 35 degrés pendant deux heures. Un tube témoin est disposé et contient de l'émulsine et de l'esculine. Au bout de deux heures, le tube témoin donne une rapide réduction de la liqueur de Fehling, et les coupes, après ébullition prolongée dans la liqueur d'Ost, donnent un précipité d'oxydure de cuivre dans les mêmes cellules où se trouve déjà l'acide esculitannique.

On ne peut envisager les résultats de cette expérience que de deux manières : ou bien 1° l'acide esculitannique et l'esculine sont dans des cellules différentes, et cette dernière sous une forme telle que l'émulsine ne peut en effectuer le dédoublement; ou bien 2° l'acide esculitannique et l'esculine se trouvent dans les mêmes cellules, et c'est ce qui explique que l'on obtient la même localisation dans les deux cas.

La réaction permettant la localisation de l'esculine avec le plus de facilité, la seule qui donne des résultats probants, et la seule à laquelle il faut avoir recours, est la réaction de SONNENSCHNIG. Elle consiste à plonger les coupes dans de l'acide azotique concentré et à les retirer aussitôt pour les mettre dans l'ammoniaque pure. On obtient ainsi une coloration rouge magnifique dans les cellules à esculine. En réalité, la



1



2

D'après A. GORIS.



BONARD, SC.

*Esculus Hippocastanum* L.; 1, tige; 2, jeune feuille (germination).



réaction ne se produit bien que dans certaines conditions qu'il nous a fallu déterminer et qui ont fait l'objet de recherches toutes particulières (1).

La meilleure méthode pour caractériser l'esculine dans les cellules qui la contiennent consiste à plonger les coupes pendant deux à quatre secondes dans de l'acide azotique (D = 1,33) renfermant 0,20 à 0,30 de fer p. 100, puis à les retirer vivement pour les faire baigner immédiatement dans de l'ammoniaque liquide du commerce. Le séjour dans ce dernier réactif peut durer quelques minutes. On monte alors la préparation dans la glycérine.

Pratiquement, on est averti de la bonne marche de la réaction par ce fait que, après immersion de la coupe dans l'acide azotique, lorsqu'on la plonge dans l'ammoniaque, elle reste une à deux secondes environ sans changer de coloration, puis, d'un seul coup, elle vire au rose et au rouge violacé. En surveillant ce phénomène, on peut alors avoir des indications sur la conduite à tenir ou sur le résultat de la réaction. On peut se familiariser avec ce réactif en effectuant ces opérations sur de jeunes rameaux étiolés, chez lesquels la chlorophylle ne vient en rien gêner la localisation.

#### Répartition de l'Esculine dans l'*Æsculus Hippocastanum* L. —

En possession d'une technique convenable, nous avons cherché la répartition de l'esculine dans tous les organes végétatifs et reproducteurs.

*Tige d'un an.* — Étudions successivement une tige jeune et une tige âgée. Dans la tige d'un an, les poils, toutes les cellules de l'épiderme et de la première assise sous-épidermique se colorent en rouge vif; il en est de même pour quelques éléments de la troisième et quatrième assises sous-épidermiques. Dans ces parties, où la réaction de l'esculine est intense, la quantité de chlorophylle est beaucoup moindre que dans la partie collenchymateuse qui est peu riche en esculine. Le parenchyme cortical renferme quelques cellules qui se colorent en rouge par la réaction de SONNENSCHNIG (Pl. XXIV, 4).

L'endoderme renferme une grande quantité d'esculine; presque toutes les cellules se colorent en rouge vif, et il n'y a guère que certains éléments, riches en amidon, qui restent insensibles à l'action du réactif.

Dans le liber, quelques cellules du parenchyme, au nombre de cinq à six par arc libérien, présentent une réaction intense. Ni les tubes criblés, ni les cellules annexes ne renferment de glucoside.

Dans le bois, on ne trouve guère d'esculine que dans certaines cellules du parenchyme ligneux voisines des éléments primaires du faisceau.

Par contre, à la périphérie de la moelle, le réactif colore presque

1. A. GORIS : Recherches microchimiques sur quelques glucosides et quelques tanins végétaux. *Th. Doct. Sc.*, Paris, 35, 1903.

toutes les cellules au contact des éléments ligneux. Cette localisation donne l'apparence d'une ligne sinueuse de cellules, bordant intérieurement le cylindre central, de même que l'endoderme le limite vers l'extérieur.

Dans la moelle, les cellules à esculine sont disposées sans ordre apparent.

Ainsi que le montre la figure, l'esculine se trouve surtout localisée suivant trois lignes concentriques constituées par la partie épidermique, l'endoderme et la périphérie de la moelle. La quantité renfermée dans les parenchymes est, en réalité, faible par rapport à ce que l'on décèle dans les autres régions.

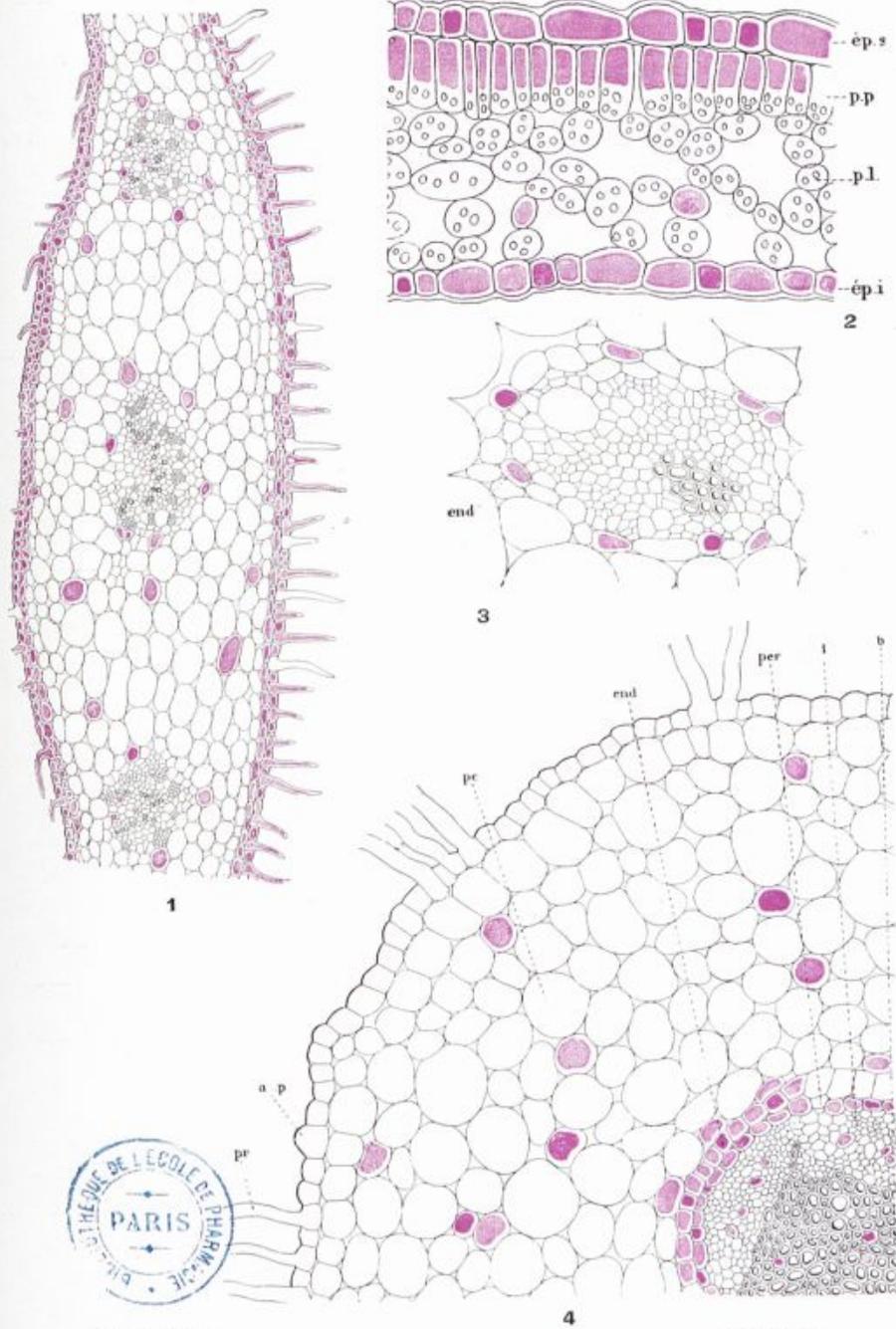
Une tige âgée de deux ans possède une structure peu différente de celle que nous venons de décrire. L'esculine s'y localise toujours de préférence dans les parties épidermiques, l'endoderme et la périphérie de la moelle.

Si nous nous adressons à une écorce un peu plus âgée, nous verrons que des modifications sont déjà survenues. Le périoderme est développé, les cellules du parenchyme cortical, aplaties, allongées tangentiellement, renferment une plus grande quantité de cristaux d'oxalate de calcium, qui s'y trouvent, dans ce cas, groupés en amas parallèles. Le liber est disposé en files radiales, séparées par des rayons médullaires formés d'une seule assise de cellules, et venant aboutir aux éléments scléreux du péricycle. Le liber est sillonné par des fibres libériennes disposées en traînées transversales et parallèles.

L'esculine se trouve localisée dans les trois ou quatre premières assises du phelloderme; le parenchyme cortical, contrairement à ce que nous avons dit pour la tige jeune, est ici assez riche en glucoside. Au voisinage des fibres péricycliques, soit en dessus, soit en dessous, la proportion en est assez forte. Dans le liber très développé, la plus grande partie de l'esculine se trouve encore au voisinage du péricycle; au contraire, dans le liber jeune, contigu au cambium, on n'en rencontre pas, sauf dans les cellules des rayons médullaires de cette région.

Si nous nous adressons à une très grosse écorce arrachée du tronc, nous verrons qu'une assise subéro-phellodermique a pris naissance dans la partie la plus interne du parenchyme cortical; la proportion des cristaux d'oxalate de calcium est considérable, la quantité d'esculine est également très grande. Par suite du fonctionnement de l'assise subéro-phellodermique, le rhytidome emporte une partie de l'esculine, tandis qu'une autre partie sera à son tour enlevée de l'arbre par formation d'un nouveau périoderme.

*Pétiole.* — La structure du pétiole est identique à celle de la tige jeune. La seule différence consiste en ce que, dans la moelle, on trouve deux, parfois trois faisceaux concentriques à liber intérieur. La locali-



D'après A. GORIS.

BONARD, SC.

*Esclus Hippocastanum L.*: 1, sépale; 2, écaille du bourgeon; 3, faisceau cotylédonaire près de la radicule.



sation de l'esculine est identique à celle de la tige; dans les faisceaux médullaires, les cellules de l'endoderme et du parenchyme libérien prennent également la coloration.

*Feuille.* — Dans la nervure médiane, la répartition du glucoside est identique à celle du pétiole.

Dans le limbe, la réaction est beaucoup plus accentuée dans l'épiderme supérieur que dans l'épiderme inférieur. Il en existe de petites quantités dans le parenchyme palissadique, généralement près de la paroi externe, et dans quelques rares cellules du parenchyme lacuneux.

Les poils tecteurs renferment de l'esculine, bien que parfois on n'obtienne pas de coloration dans ces éléments; cela tient à ce que la nature de leur membrane s'oppose à l'action des réactifs, mais tout poil endommagé ou brisé se colore en rouge, le réactif pouvant ainsi arriver jusqu'au contenu de la cellule.

*Racine.* — Dans la radicule, l'esculine se localise principalement dans l'endoderme (quand ce dernier toutefois n'est pas en voie de division pour la formation de l'assise subéro-phellodermique), dans le péri-cycle et le liber. On en rencontre très peu dans le parenchyme cortical et jamais dans les poils radicaux. Le point végétatif ne contient pas d'esculine (Pl. XXV, 4).

Dans une écorce de racine âgée, la répartition est la même que dans une écorce de tige, ainsi que le montrent les figures et la planche.

*Organes de reproduction.* — Les axes d'inflorescence possèdent une structure identique à celle des pétioles et des jeunes tiges. La répartition de l'esculine y est également semblable.

Dans le *calice*, la réaction de SONNENSCHNEIN est beaucoup plus intense dans l'épiderme inférieur: c'est le contraire de ce que nous avons vu dans la feuille. Cette partie du sépale est celle qui est exposée à la lumière. En rapprochant ce fait de ce que nous avons déjà vu précédemment, il semblerait que l'esculine s'accumule de préférence dans les parties des organes exposées à la lumière. Dans le mésophylle, le glucoside se trouve réparti un peu partout, sans ordre apparent. On le rencontre aussi en petite quantité dans l'endoderme des petits faisceaux (Pl. XXV, 1).

Dans la nervure du *pétale*, l'esculine se trouve presque exclusivement localisée dans les épidermes. Le parenchyme en renferme très peu et, l'endoderme n'étant que très peu différencié, le nombre des cellules à l'esculine qu'il renferme est extrêmement faible. Dans le limbe, il n'y a plus d'esculine dans les épidermes; seules, quelques rares cellules du mésophylle se colorent en rose.

Dans l'*étamine*, l'esculine se trouve presque exclusivement dans l'épiderme et l'assise sous-épidermique, et dans quelques rares cellules du parenchyme cortical voisines de l'épiderme.

On en rencontre très peu dans les régions endodermiques du faisceau.

L'*ovaire* possède trois loges ovariennes avec chacune deux ovules. La paroi de ces loges est parenchymateuse et renferme des faisceaux en voie de différenciation. Dans l'*ovaire* jeune et à la base, l'esculine se trouve vers les parties épidermiques et au voisinage de l'ébauche des faisceaux. Dans les coupes successives, en partant de la base, lorsque les loges ovariennes commencent à apparaître, le glucoside se rassemble en trois lignes correspondant aux lignes de séparation. Lorsque les loges seront formées, toutes les cellules épidermiques internes renfermeront alors de l'esculine.

Dans l'*ovaire* devenu *fruit*, les faisceaux sépareront, pour ainsi dire, la paroi du fruit en deux parties : vers l'extérieur, une partie compacte et verte ; vers l'intérieur, une partie blanche et molle. La plus grande partie de l'esculine se trouvera dans la région verte située au-dessus de ces faisceaux.

Si nous prenons l'*ovule*, nous verrons qu'à tous les stades du développement, l'esculine se trouve exclusivement dans les *téguments*. On n'en rencontre jamais dans l'embryon. De même, lorsque l'ovule sera devenu la *graine*, l'esculine sera entièrement localisée dans le tégument de cette dernière. Ni la radicule, ni les cotylédons n'en renferment aucune trace, contrairement à l'opinion émise par E. LAVES<sup>(1)</sup>. La petite quantité d'esculine que l'auteur allemand prétend avoir décelée par la fluorescence provient très probablement des parcelles du tégument, difficiles à séparer de l'embryon dans les graines sèches. Les nombreuses recherches faites à ce sujet ne nous ont jamais permis de déceler trace d'esculine dans l'embryon.

**Variations de l'Esculine pendant la végétation de l'*Æsculus Hippocastanum* L.** — Au moment de la chute des feuilles, on peut voir, lorsqu'elles commencent à jaunir, que la proportion d'esculine est moins grande : la réaction de SONNENSCHNIGER est faible dans les parties épidermiques et le parenchyme cortical. Le liber seul présente une plus grande quantité de cellules se colorant en rouge violacé. Dans les feuilles complètement jaunes qui se détachent de l'arbre, la localisation se fait avec moins d'intensité encore. Les réactifs des tanins ne donnent également que des réactions douteuses. En résumé, à la fin de l'été, l'esculine existe, dans le liber des rameaux, en plus grande quantité qu'au printemps. Peut-être est-elle en voie de transport vers les parties plus âgées. Plus tard, vers la fin de l'automne, la réaction de SONNENSCHNIGER ne donnant plus de résultats, il faut en conclure que

1. E. LAVES: Ueber die Zusammensetzung der Früchte von *Æsculus Hippocastanum*. *Pharm. Centralbl.*, 42, 333-336, 1901.

l'esculine n'existe plus. A-t-elle été entièrement transportée dans l'écorce des rameaux ? A-t-elle subi une transformation (oxydation probablement) dans les cellules mortes de la plante ? C'est là un point qui reste encore à élucider.

A la fin de l'automne, il apparaît souvent des feuilles de seconde pousse ; elles sont de couleur vert jaunâtre et n'atteignent jamais la couleur verte des premières feuilles. Dans ces organes, la localisation de l'esculine se fait facilement, mais la réaction est toujours moins intense qu'avec les feuilles développées aux mois de mai et juin. La répartition y est identique ; les endroits de prédilection sont l'épiderme, l'endoderme et la périphérie de la moelle. Les parenchymes n'en renferment que de petites quantités.

La graine ne renfermant pas d'esculine, sauf dans le tégument qui ne joue aucun rôle dans la germination, nous avons déterminé l'époque à laquelle apparaissait ce produit dans la plante.

On suit, jour par jour, des graines mises en germination, de façon à connaître l'instant précis où apparaît le glucoside. En opérant ainsi, on voit que l'esculine apparaît dans la radicule dès que cette dernière a percé le tégument.

Si nous étudions la répartition du glucoside à cette époque, la figure nous donnera une idée du lieu d'élection de ce produit.

Le point végétatif ne renferme pas trace de glucoside ; ce dernier commence à apparaître à une certaine distance du sommet, dans le parenchyme cortical et la moelle. Lorsque l'endoderme est différencié, l'esculine s'y localise et, un peu plus tard, toutes les cellules de cette assise en renferment (fig. 7).

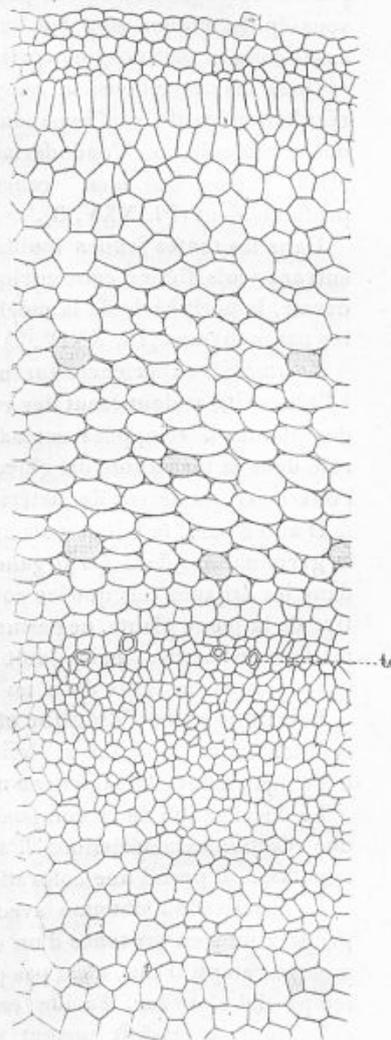


FIG. 7. — Répartition de l'Esculine dans l'extrémité de la radicule (germination) de l'*Esculus Hippocastanum* L.

Dans la tigelle, la localisation est également facile à réaliser. La figure montre la répartition du glucoside dans cet organe et dans le pétiole cotylédonaire. Nous pouvons voir que l'épiderme et les assises sous-épidermiques sont les lieux d'élection du glucoside. Il en existe aussi dans le parenchyme cortical et surtout dans l'endoderme (fig. 8).

Dans les cotylédons, la réaction de SONNENSCHNEIDER donne partout des résultats négatifs, sauf cependant dans quelques faisceaux, au voisinage de la radicule, où l'endoderme renferme certaines cellules à esculine. Mais jamais on n'en rencontre dans les faisceaux situés plus profondément (Pl. XXV, 3).

Dans les toutes jeunes feuilles de la gemmule, la répartition se fait suivant trois lignes concentriques constituées par l'épiderme, l'endoderme, la périphérie de la moelle; il n'en existe que très rarement dans les parenchymes (Pl. XXIV, 2).

Les mêmes expériences furent répétées sur des graines mises à germer à l'obscurité et donnèrent des résultats identiques à ceux obtenus avec des plantes développées normalement. La lumière ne joue donc aucun rôle dans la formation du glucoside qui peut parfaitement se faire dans l'obscurité, au moyen de matériaux accumulés dans l'embryon.

D'autre part, le fait de voir apparaître cette substance, au moment de la germination, dans les organes en voie de développement et non pas dans les organes tels que les cotylédons qui constituent la réserve nutritive de la jeune plante, ne permet guère d'envisager ce corps comme une matière de réserve, mais plutôt comme un résidu inutile au végétal. Nous examinerons ces faits dans un autre chapitre.

**Relations entre l'Esculine et l'acide Esculitannique.** — Y a-t-il une relation entre l'esculine et l'acide esculitannique de la plante? Ce point a été également envisagé dans notre travail.

La localisation de ce composé tannique est facile parce qu'il possède une réaction caractéristique. Par l'action simultanée d'un sel de fer et de la potasse, il prend une coloration rose.

La localisation obtenue avec le sulfate de fer seul, en plaçant les préparations en présence d'un cristal de sulfate de fer dans un verre de montre rempli d'eau, n'est pas précise. Avant que le sel de fer ait eu le temps de s'oxyder, l'acide esculitannique a diffusé, de sorte que la coloration se produit surtout sur les membranes. On arrive à un très bon résultat en opérant en milieu glycérolé; l'action du sel ferreux peut se produire avant la diffusion de l'acide esculitannique et, quand la coupe a pris une teinte verte, on la lave rapidement et on la plonge dans une solution de potasse.

Cette réaction est assez difficile à effectuer et surtout longue; aussi est-il bon de ne l'employer que comme moyen de contrôle et de se servir pour ces recherches des réactifs ordinaires des tanins. •

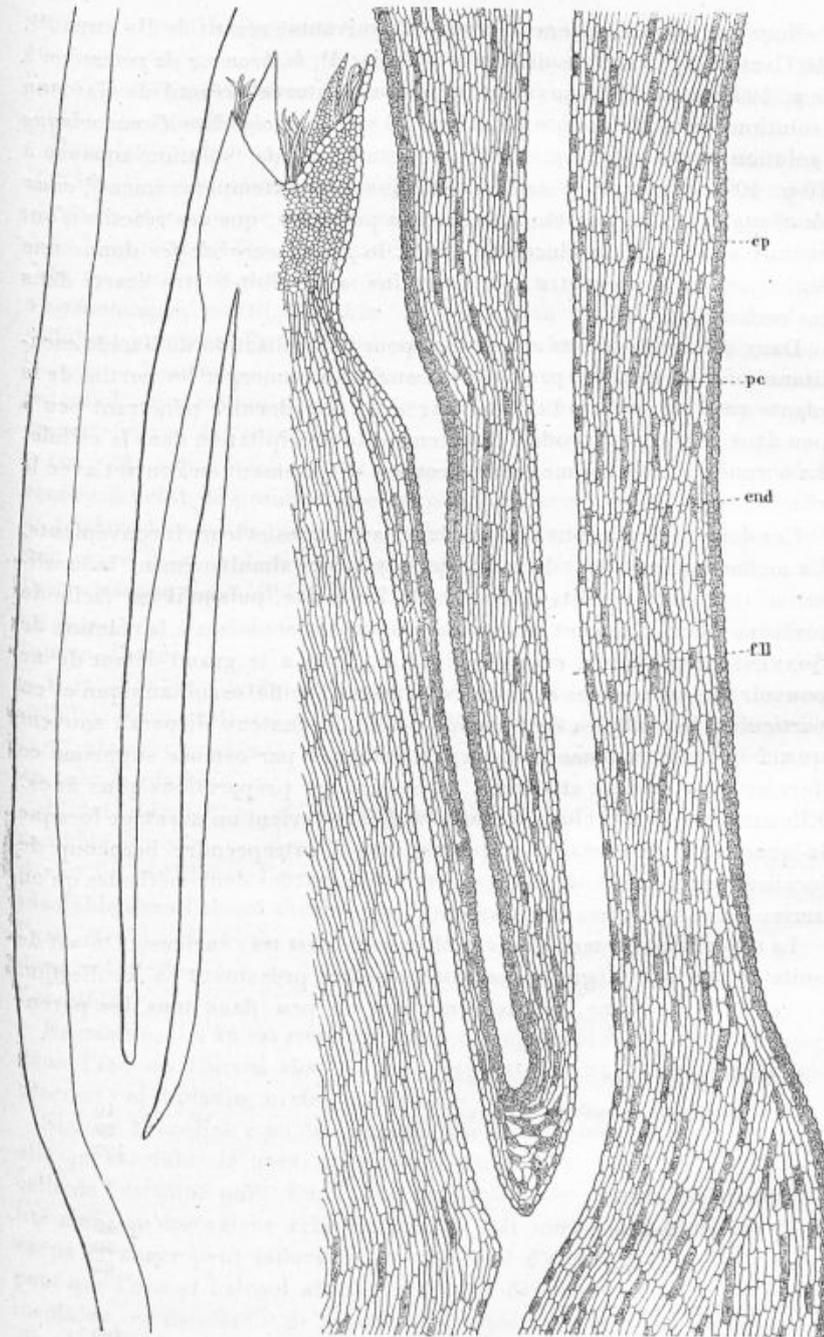


FIG. 8. — Répartition de l'Esculine dans l'extrémité de la tigelle (germination) de l'*Esculus Hippocastanum* L.

Nous nous sommes servi des réactifs suivants : réactif de BRÆMER (<sup>1</sup>), de CARPENE (<sup>2</sup>) (acétate de zinc ammoniacal), *bichromate de potassium* à 5 p. 100, *acétate d'urane* (solution aqueuse saturée), réactif de GAUTIER (solution aqueuse d'acétate de cuivre à 1 p. 30), *molybdate d'ammoniaque* (solution aqueuse à 20 p. 100), *arséniat de soude* (solution aqueuse à 10 p. 100), *cyanure de potassium* (solution faite extemporanément), *eaux de chaux* et de *baryte*. On s'assure, au préalable, que ces réactifs n'ont aucune action sur le glucoside. Seul, le *perchlorure de fer* donne une légère coloration verdâtre avec l'esculine, aussi doit-il être écarté dans les recherches.

Deux méthodes ont été employées pour la localisation de l'acide esculitannique. La méthode par osmose consiste à immerger les parties de la plante que l'on veut étudier dans le réactif. Ce dernier pénétrant peu à peu dans les tissus y produit directement la précipitation dans la cellule. La seconde consiste à mettre les coupes directement en contact avec le réactif.

Ces deux méthodes ont chacune leurs avantages et leurs inconvénients. La méthode par contact direct permet de suivre simultanément la localisation de l'acide esculitannique et de l'esculine, puisqu'il est facile de prélever alternativement des coupes qui seront soumises à la réaction de SONNENSCHNEIN ou aux réactifs du tanin. Elle a le grand défaut de ne pouvoir fixer toutes les cellules renfermant l'acide esculitannique et en particulier les cellules épidermiques dont le contenu disparaît souvent quand le rasoir entame le tissu. La méthode par osmose supprime ce dernier inconvénient et permet d'obtenir des préparations plus fines. Elle est généralement longue, mais ce défaut devient un avantage lorsque la quantité de matériaux ne permet pas d'entreprendre beaucoup de localisations à la fois. Ce n'est qu'en combinant les deux méthodes qu'on arrive à s'en servir avantageusement.

La répartition du tanin dans le Marronnier est très curieuse. On est de suite frappé par la grande concordance que présentent sa localisation et celle de l'esculine. On le rencontre un peu dans tous les paren-

1. Réactif de BRÆMER :

Tungstate de soude . . . . .	10
Acétate de soude . . . . .	20
Eau . . . . .	100

2. Réactif de CARPENE :

Oxyde de zinc . . . . .	40
Eau . . . . .	50
Acide acétique . . . . .	65

Dissoudre à chaud et ajouter :

Ammoniaque . . . . .	100
Eau distillée Q. S. . . . .	pour 500

chymes, et particulièrement en abondance dans l'épiderme et les assises sous-épidermiques, l'endoderme et la zone médullaire périphérique. Que l'on s'adresse aux écorces, à la racine, aux pétales, sépales, ovaires, partout l'acide esculitannique accompagne toujours l'esculine.

Dans les cotylédons, qui sont privés d'esculine, il n'y a pas de tanin. Pendant la germination, dès qu'apparaît l'esculine, on peut mettre aussitôt en évidence l'acide esculitannique. L'apparition de ces deux produits dans le végétal est donc simultanée.

Si on traite une coupe pendant quelques minutes par le molybdate d'ammoniaque, réactif du tanin, on obtient un précipité jaune dans les cellules renfermant l'acide esculitannique ; si alors on passe rapidement la coupe à l'eau et qu'on la soumette à la réaction de SONNENSCHNEIN, toutes les cellules qui étaient au préalable jaunes prennent la coloration rouge, caractéristique de l'esculine.

On peut même réaliser cette expérience d'une façon plus convaincante ; il suffit de prendre une coupe assez large, de la traiter par le molybdate d'ammoniaque pendant une à deux minutes, de l'enlever avec une pince fine, et d'en plonger la moitié dans l'acide azotique, puis l'ammoniaque. La moitié de la préparation sera colorée en rouge, l'autre en jaune, et à la limite de séparation on pourra voir des cellules de teinte intermédiaire.

L'esculine et l'acide esculitannique existent donc dans les mêmes cellules. Sous quelle forme y sont-ils ? Sont-ils totalement libres, sont-ils intégralement combinés, sont-ils en partie libres, en partie combinés ou en voie de combinaison ?

L'essai microchimique semblerait venir à l'appui de l'hypothèse d'une combinaison entre ces deux corps. L'acide esculitannique est très soluble dans l'eau et l'alcool ; l'esculine, par contre, est peu soluble dans l'eau et insoluble dans l'alcool absolu ; par conséquent des coupes plongées dans l'eau et l'alcool absolu devraient au bout d'un certain temps ne plus donner les réactions de l'acide esculitannique, mais encore celles de l'esculine.

En réalité, il n'en est rien, car après un séjour de deux à trois minutes dans l'eau ou l'alcool absolu, les préparations ne donnent plus les réactions ni du tanin, ni de l'esculine.

Si donc l'esculine a pu être enlevée par les dissolvants dans lesquels elle est insoluble *in vitro*, c'est qu'elle existe sous une forme autre que celle de l'esculine pure. En réalité, ces expériences basées sur la solubilité n'ont qu'une valeur relative, car on sait combien la présence d'un corps étranger peut influencer la solubilité d'autres substances. Il se peut que l'eau et l'alcool absolu, véhicules dans lesquels l'esculine est insoluble, en dissolvent de grandes quantités lorsque cette dernière est simplement en présence d'acide esculitannique. On peut aussi, d'ailleurs,

expliquer ces modifications de solubilité par l'existence de combinaisons peu stables.

Des travaux chimiques entrepris à la suite de ces recherches de localisation nous ont permis de dire que l'esculine et l'acide esculitanique existaient dans la plante sous forme de combinaison. Ce complexe n'a pas été isolé, mais pour d'autres substances, et en particulier la Kola fraîche, nous avons pu extraire une combinaison de tannoïde et d'alcaloïde, la *Kolatine-caféine*, qui est venue donner un sérieux appui à cette théorie.

**Répartition de l'Esculine dans le *Pavia rubra* Moench.** — Le *Pavia rubra* Moench renferme également de l'esculine que l'on peut caractériser microchimiquement. Sa répartition est absolument analogue à celle que l'on trouve dans l'*Æsculus Hippocastanum* L.

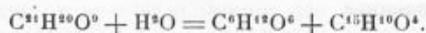
## RHAMNACÉES

### 1. — Franguline.

La *Franguline* (*Rhamnégine*) se trouve dans les *Rhamnus Frangula* L., *R. infectoria* L., *R. tinctoria* W., *R. Purshiana* D. C.

C'est une substance cristallisée, jaune citron, insoluble dans l'eau et l'éther, soluble dans la benzine bouillante.

Par hydrolyse, la franguline donne du *Rhamnose* et de l'*Émodine* :



Cette dernière, qui est un *dioxyanthraquinonylcarbinol*, accompagne la franguline dans les *Rhamnus*.

**Caractères microchimiques.** — Les réactions qui permettent la recherche microchimique de la franguline sont les suivantes :

1° Les *alcalis étendus*, le *carbonate d'ammoniaque*, la colorent en rouge ;  
2° L'*acide sulfurique étendu* donne une coloration jaune allant jusqu'au rouge suivant la proportion de glucoside ;

3° Le *ferrocyanure de potassium* donne un précipité rose chair.

**Méthodes de localisation.** — L'étude de la localisation de ce produit a été entreprise par Borscow (1), et plus récemment par L. GRÈS (2), au moyen d'une *solution faible de potasse* (0,50 p. 100). Ce dernier auteur a contrôlé ces premiers résultats par la localisation au moyen de l'*acide sulfurique étendu*.

1. BORSCHOW : Beiträge zur Histochemie der Pflanzen. *Bot. Zeit.*, 32, 33, 1874.

2. L. GRÈS : Contribution à l'étude anatomique et microchimique des Rhamnées. *Th. Doct. Un. pharm.* Paris, 61, 1901.

On pourrait avec avantage employer la technique indiquée par nous à propos de la localisation de la polygonine dans le *Polygonum cuspidatum* (Sieb. et Zucc.), ou bien encore la méthode de SOUÈGES au moyen des vapeurs d'ammoniaque.

**Répartition de la Franguline dans le *Rhamnus Frangula* L.** — Nous donnerons rapidement la répartition de ce glucoside dans le *Rhamnus Frangula* L.

*Racine.* — Le glucoside est surtout situé dans le parenchyme cortical et les rayons médullaires. Quelques cellules du parenchyme libérien donnent une réaction positive.

Cette répartition se retrouve dans les *R. infectoria* L., *R. cathartica* L., *R. caroliniana* Wall., *R. pumila* L., *R. chlorophora* Desne, *R. Alaternus* L., *R. Billiardi* Hort., *R. Purshiana* D. C.

*Tige.* — La franguline existe en petite quantité dans le liber; on en trouve également dans les régions profondes de l'écorce; mais ce sont les rayons médullaires qui constituent par excellence le siège du glucoside. Borscow avait admis que le glucoside existait dans le parenchyme ligneux lignifié. GRÈS ne confirme pas cette remarque.

Le glucoside existe dans la tige en plus grande abondance au mois de mai; au mois d'août, les réactions sont beaucoup moins intenses.

*Feuille.* — Dans la feuille, on peut constater les réactions de la franguline dans les nervures. Le limbe n'en renferme jamais.

La localisation dans les nervures est semblable à celle que l'on observe dans la tige, c'est-à-dire : dans les rayons médullaires, le parenchyme ligneux non lignifié, le liber et les cellules parenchymateuses voisines des faisceaux. Ce sont les rayons médullaires qui donnent la réaction la plus intense, et le liber la réaction la plus faible.

## 2. — Xanthorhamnine.

La *Xanthorhamnine* est un glucoside que l'on trouve dans les fruits de certains *Rhamnus* et, en particulier, dans le *Rh. infectoria* L. Il existe sous deux formes isomériques  $\alpha$  et  $\beta$ . Sous l'action des acides, il se dédouble en une molécule de *Galactose-d*, deux molécules de *Rhamnose* et une molécule de *Rhamnétine*.

Sous l'action d'un ferment spécial, la *Rhamnase*, le dédoublement se fait en un *saccharotriose* (le *Rhamminose*) et en *Rhamnétine*.

La rhamnétine est une *Méthylquercétine*.

**Méthodes de localisation.** — La localisation de ce produit a été réalisée par L. GRÈS au moyen des alcalis, qui colorent le glucoside en jaune. Elle n'a été faite que dans le fruit.

Sous l'action d'une goutte d'eau ammoniacale très diluée, on voit les cellules périphériques du péricarpe, qui étaient remplies d'un pigment

rouge violacé, se colorer en vert intense. Toutes les autres cellules du péricarpe prennent une coloration jaune vif.

Les solutions alcalines diluées quelconques (eau de chaux, potasse ou soude très étendues), le sulfhydrate d'ammoniaque et le carbonate d'ammoniaque produisent le même phénomène. Avec l'acide sulfurique très étendu on a un précipité jaune dans toutes les cellules.

La coloration jaune des éléments internes du mésocarpe est due à la présence de xanthorhamnine.

L'endocarpe (couche scléreuse), l'albumen, les cotylédons, l'embryon ne manifestent aucune coloration par l'eau ammoniacale diluée ou par les acides étendus.

### 3. — *Lokaïne*.

La *Lokaïne* est un glucoside qui donne le *Lo-Kao*, matière colorante verte fabriquée en Chine avec le *R. utilis* Desne et le *R. chlorophora* Desne. C'est un glucoside qui se dédouble en un sucre, le *Lokaose* et acide *Lokanique*.



GRÈS a montré que ce glucoside existait dans les cellules de la périphérie du péricarpe, qui, primitivement, contenaient un pigment rouge violacé. Ces cellules viraient au vert intense sous l'action des solutions alcalines faibles.

Les cellules du mésocarpe situées en dessous prennent une coloration jaune due à la xanthorhamnine.

## LÉGUMINEUSES

### *Sophorine*.

La *Sophorine*, glucoside isolé du *Sophora japonica* L., a été identifiée avec la *Rutine*. La localisation de ce principe a été étudiée par O. HERMANN. On peut employer à cette recherche, la technique indiquée par MIÈGE, pour la localisation de la rutine dans le *Fagopyrum*.

**Répartition dans le *Sophora Japonica* L.** — La tige florale donne une réaction intense dans la partie périphérique et la moelle. En un mot, la localisation semble identique à ce que nous avons signalé pour la Rue.

Dans le calice, toutes les cellules parenchymateuses se colorent en jaune intense.

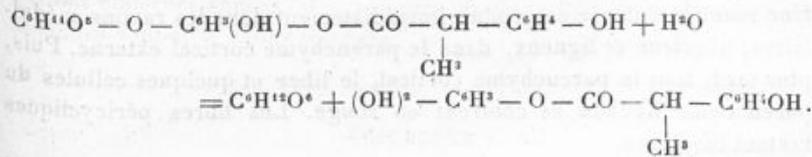
## ROSACÉES

## Phloridzine.

La *Phloridzine* a été découverte par STAS et DE KONINCK; elle existe dans l'écorce des racines du Pommier, du Poirier, du Prunier et du Cerisier. L'écorce de racine de *Pyrus Malus* L. en renferme 3 à 5 p. 100 et la feuille 0,80 p. 100.

C'est une substance peu soluble dans l'eau froide, très soluble dans l'eau bouillante, soluble dans l'alcool ordinaire et l'alcool méthylique, insoluble dans l'éther.

Par hydrolyse, elle donne du *Glucose* et de la *Phlorétine*, ou éther *paraoxyhydratropique de la phloroglucine*.



**Méthodes de localisation.** — La localisation de ce composé a été réalisée par O. HERMANN (1) qui n'a obtenu de résultats satisfaisants que chez le Pommier.

Dans les autres espèces de Rosacées : *Prunus domestica* L., *Prunus Cerasus* L., *Pyrus communis* L., le tanin, contenu en grande quantité dans les cellules, masque les réactions.

O. HERMANN a employé, pour cette recherche microchimique de la phloridzine, l'*acide chlorhydrique concentré* qui colore les cellules à glucoside en rouge brun foncé. On contrôle les résultats par le *sulfate ferreux* qui donne, selon lui, un précipité jaune brun dans les mêmes cellules.

Nous avons vérifié la localisation de la phloridzine et avons commencé par étudier les réactions de ce corps *in vitro* :

- 1° L'*acide sulfurique concentré* communique à ce glucoside une coloration jaune devenant rougeâtre à la longue ;
- 2° L'*acide chlorhydrique concentré* ne donne pas de coloration ;
- 3° Le *perchlorure de fer* donne une coloration lilas ;
- 4° Le *sulfate ferreux* lui communique une coloration lilas beaucoup moins intense ;

1. O. HERMANN : Nachweis organ. Verbindungen in vegetabil. Geweben. *Dissert.* Leipzig, 21-23, 1876.

5° Le réactif de RONCERAY (acide sulfurique + vanilline) donne une coloration rouge aurore.

6° L'acide chlorhydrique et la vanilline le colorent en rouge plus ou moins vif, suivant la quantité de glucoside et de réactif mis en présence. Ce réactif est beaucoup plus général et colore beaucoup mieux ces substances que le réactif de RONCERAY (1). Parmi les corps qui se colorent en rouge vif citons : l'orcine, la phloroglucine, la catéchine.

Nous avons essayé ces différents réactifs sur des coupes de racines de *Pirus Malus*.

1° L'acide chlorhydrique pur ne donne rien ;

2° L'acide sulfurique concentré produit bien une coloration jaune dans le parenchyme cortical, mais détruit rapidement la coupe ;

3° L'acide chlorhydrique et la vanilline donnent de bons résultats en suivant les indications suivantes :

On monte les coupes à sec et l'on fait arriver le réactif sous la lamelle. Une réaction intense se produit immédiatement dans les rayons médullaires, libériens et ligneux, dans le parenchyme cortical externe. Puis, plus tard, tout le parenchyme cortical, le liber et quelques cellules du parenchyme ligneux se colorent en rouge. Les fibres péricycliques restent incolores.

Cette réaction n'est pas particulière à ce glucoside.

La rapidité de la réaction, alors que *in vitro* cette dernière est plus lente et moins vive, laisse un doute sur sa spécificité. Cependant, il nous semble bien que ce soit là le siège de la phloridzine, car la réaction que l'on obtient avec le perchlorure de fer confirme les résultats obtenus avec la vanilline chlorhydrique. Cette réaction est également délicate à effectuer à cause de la diffusion rapide de la coloration produite par le réactif. On monte les coupes à sec et l'on fait arriver de la solution de perchlorure de fer assez concentrée (2) [30 p. 100]. Au contact du réactif, toutes les cellules du parenchyme cortical externe se colorent en lilas ; en suivant sous le microscope, on peut voir les cellules des rayons médullaires prendre la même teinte. Les fibres se colorent *secondairement* en lilas pâle.

Cette réaction est assez spécifique de la phloridzine ; les tanins qui donnent une coloration lilas avec le perchlorure de fer sont rares. La phloroglucine, qui pourrait exister à côté de la phloridzine et donner également une coloration rouge avec la vanilline chlorhydrique, se colore en un bleu violet très différent de la coloration obtenue. Malgré cela, il n'est pas prouvé que de petites quantités de phloroglucine

1. L. ARNOUD et A. GORIS : Action du réactif sulfovanillique de RONCERAY sur quelques composés chimiques et quelques végétaux. *Bull. Sc. pharm.*, **46**, 191, 1909.

2. Avec le perchlorure de fer dilué, la réaction est beaucoup moins nette.

n'existent pas près de la phloridzine dans les mêmes cellules, mais ce fait ne pourrait infirmer les conclusions que l'on peut tirer de l'action concordante des deux réactifs employés à cette localisation.

**Répartition du glucoside.** — *Racine.* — La phloridzine se trouve surtout dans le phelloderme. Dans les régions de l'écorce qui touchent au bois, les cellules contenant la phloridzine sont plus rares. Les rayons médullaires de la région libérienne et les rayons médullaires de la région ligneuse contiguë au cambium donnent une réaction intense. Le liber, le cambium, les cellules du bois renferment beaucoup moins de glucoside.

*Tige.* — Dans les jeunes branches, la réaction la plus intense a lieu dans le collenchyme sous-épidermique. La coloration se produit aussi dans quelques cellules du parenchyme de l'écorce, de la moelle et dans les rayons médullaires, surtout dans la zone libérienne. Dans les branches qui ont plusieurs années, il y a moins de glucoside, aussi les réactions obtenues sont-elles moins intenses.

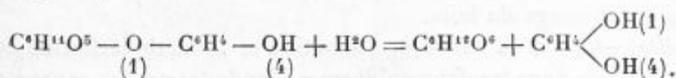
## ÉRICACÉES

### 1. — Arbutine

L'Arbutine est un glucoside existant dans l'*Arctostaphylos Uva-ursi* Spreng., le *Vaccinium Myrtillus* L., le *Pyrola umbellata* L., le *Gaultheria procumbens* L., le *Chimaphila maculata* Pursh, à côté d'un homologue, la *Méthylarbutine*. On peut l'isoler à l'état pur, avec une grande facilité et un très grand rendement, de certains *Pirus* (BOURQUELOT et M<sup>lle</sup> FICHTENHOLZ).

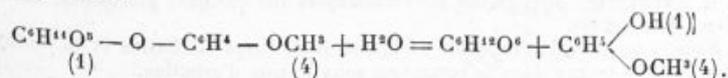
Ce glucoside cristallise en aiguilles brillantes fondant à 196°.

Il est soluble dans l'eau, l'alcool, peu soluble dans l'éther. Sous l'action des acides ou de l'émulsine, il se dédouble en donnant du *Glucose* et de l'*Hydroquinone*.



La *Méthylarbutine* cristallise en longues aiguilles soyeuses fusibles à 174° ou 175°; elle est peu soluble dans l'eau froide, l'éther, très soluble dans l'eau chaude et l'alcool.

Par les acides ou l'émulsine, elle se dédouble en *Glucose* et *méthylhydroquinone*.



**Caractères microchimiques.** — 1° Les *alcalis* dissolvent l'arbutine en donnant à la solution une légère coloration jaunâtre.

2° Le *perchlorure de fer* colore en bleu sa solution aqueuse (SCHIFF).

3° L'*acide sulfurique* à 66°, l'*acide sulfurique hydraté* additionné, soit de *séléniate de soude*, soit de *vanadate d'ammonium*, ne donnent aucune réaction.

4° L'*acide chlorhydrique*, tout en la dissolvant, produit une légère coloration jaune. A chaud, la couleur est accentuée et devient jaune rouge.

5° L'*acide azotique* à 1,33, ou dilué, donne une belle coloration jaune orangé.

6° Le réactif de JUNGSMANN (1 gramme de phosphomolybdate de soude, 10 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique concentré et 20 cm<sup>3</sup> d'eau) lui communique une teinte bleu saphir après addition d'ammoniaque.

Pour faire cette réaction, on dissout quelques centigrammes d'arbutine dans 1 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, on y ajoute 6 à 8 gouttes de réactif, puis 5 à 8 gouttes d'ammoniaque.

La méthylarbutine ne donne ni cette réaction, ni celle du perchlorure de fer.

**Méthodes de localisation.** — CHEMINEAU (1) préconise pour la localisation de l'arbutine l'*acide azotique dilué au quart* de son volume d'eau, ou même deux volumes d'acide azotique pour un volume d'eau. Cette réaction a l'avantage d'être également donnée par la méthylarbutine.

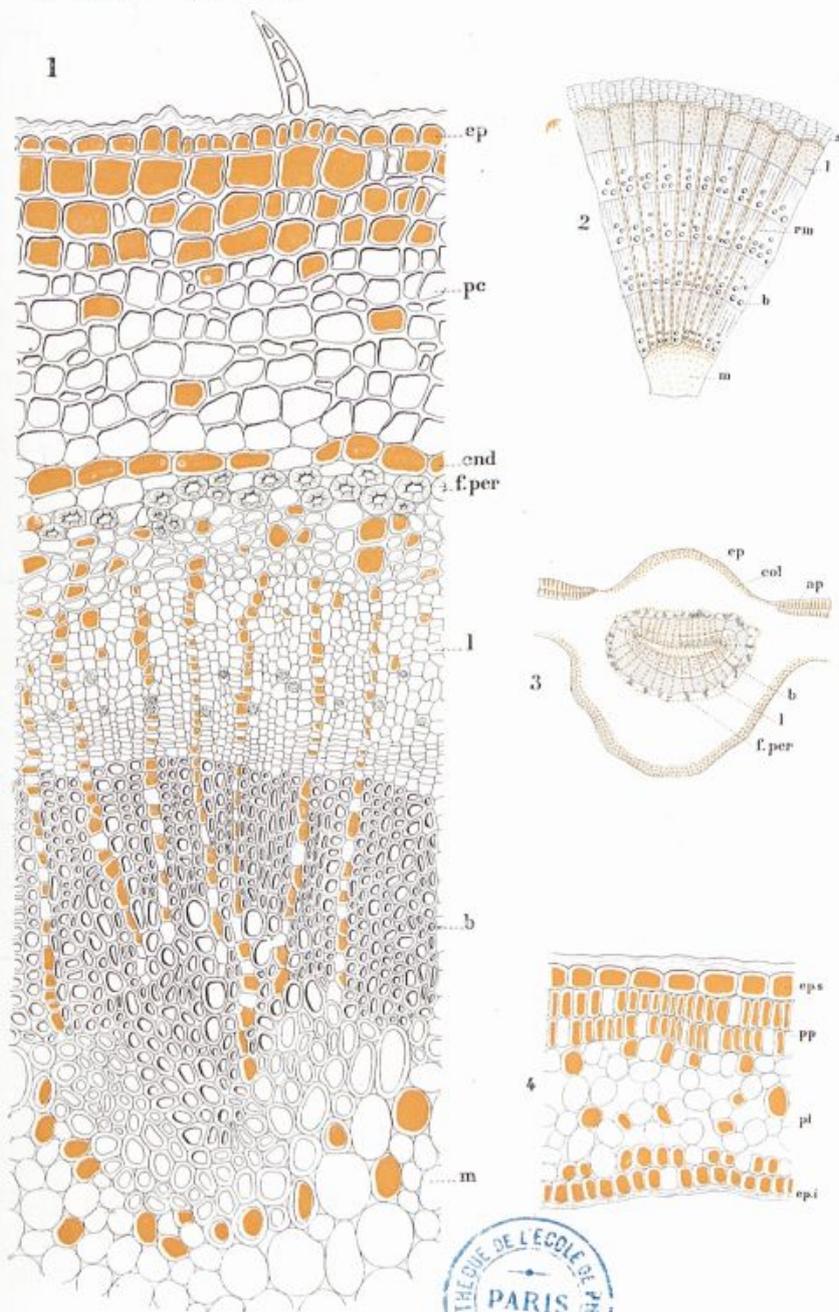
Les coupes sont plongées dans l'un des deux réactifs et y restent une minute et demie, ou trois ou quatre minutes, suivant le degré de dilution de l'acide. Les coupes prennent une teinte rougeâtre. On les retire et on les monte aussitôt en glycérine. Les cellules à arbutine prennent une belle coloration jaune orange.

**Répartition de l'Arbutine (2) dans l'*Arctostaphylos Uva-ursi* Spreng. — Tige.** — Les glucosides sont répartis en abondance dans la partie externe du liber et les rayons médullaires. La réaction est encore très intense dans la moelle, en particulier dans les cellules de la périphérie au voisinage du bois.

**Feuille.** — Dans la nervure, l'arbutine et la méthylarbutine se trouvent localisées dans les deux épidermes, l'endoderme, les rayons médullaires et la zone péridermique. Dans le mésophylle, les glucosides se rencontrent dans les deux épidermes et dans le parenchyme, mais en plus grande quantité toutefois dans le tissu palissadique (Pl. XXVI, 3).

1. R. CHEMINEAU: Recherches microchimiques sur quelques glucosides. *Th. Doct Pharm.*, Paris, 1904.

2. Sous le nom d'arbutine, nous désignons le mélange d'arbutine et de méthylarbutine que l'on trouve dans le commerce sous le nom d'arbutine.



R. CHENEAT, del.

BONARD, sc.

*Arbutus Unedo* L.; 1, tige; 3, nervure médiane de la feuille; 4, mésophylle de la feuille. *Arctostaphylos Uva-ursi* Spreng.; 2, tige âgée.





TUNMANN (1) a également étudié la répartition de l'arbutine dans l'*Uva-ursi* et a employé la même méthode que CHEMINEAU. Comme il ne le cite pas, il faut en conclure qu'il n'a pas eu connaissance du travail de ce dernier auteur.

Il emploie également l'acide azotique pour caractériser l'arbutine dans la cellule; il admet aussi que le tanin et l'arbutine existent dans les mêmes cellules et qu'ils sont très probablement associés entre eux. Il montre que les cellules à tanin se colorent par l'acide chlorhydrique et la vanilline, et que, si l'on fait ensuite agir l'acide azotique concentré, ces cellules se colorent en jaune de chrome. Un seul point de son travail diffère des conclusions de CHEMINEAU. TUNMANN a bien signalé l'absence de glucoside dans le bois des faisceaux, dans les fibres et les cellules sclérifiées, mais, contrairement à CHEMINEAU, il ne trouve pas d'arbutine dans les cellules épidermiques.

**Répartition de l'Arbutine dans l'*Arbutus Unedo* L. — Tige. —** Les glucosides se trouvent dans l'épiderme et les quatre ou cinq assises sous-épidermiques, l'endoderme, la partie la plus externe du parenchyme libérien, les rayons médullaires, et à la périphérie de la moelle. Le bois en est presque complètement dépourvu. Dans la tige plus âgée, l'assise subéreuse, qui prend naissance dans la région la plus externe du liber, a exfolié de bonne heure le péricycle, l'endoderme et tout le parenchyme cortical. Les glucosides offrent la même répartition que dans la tige âgée de l'*Arctostaphylos Uva-ursi* Spreng. que nous venons de signaler. On les trouve principalement dans la partie externe du liber, les rayons médullaires, la périphérie de la moelle (Pl. XXVI, 1).

**Feuille. —** La répartition est identique à celle indiquée pour la feuille d'*Uva-ursi* (Pl. XXVI, 3, 4).

Dans l'*Arctostaphylos Uva-ursi* Spreng., comme dans l'*Arbutus Unedo* L., les glucosides, arbutine et méthylarbutine, se rencontrent dans les mêmes cellules que le tanin de la plante.

## 2. — Andromédotoxine.

L'Andromédotoxine est un glucoside isolé de l'*Andromeda japonica* Thunb., par PLUGGE.

L'andromédotoxine a encore été isolée de *Andromeda Polifolia* L., *A. Castesbaei* Walt., *A. calyculata* L., *Rhododendron ponticum* L., *Rh. chrysanthemum* L., *Rh. javanicum* Benn., *Rh. hybridum* Ker-Gawl., *Rh. maximum* L., *Azalea indica* L., *Pernettya repens* Zoll. et Mor., *Kalmia angustifolia* L., *K. latifolia* L., *Monotropa uniflora* L., *Oxydendron arboreum* DC.<sup>2</sup>

1. O. TUNMANN: Ueber folia *Uva-ursi* und den mikrochemischen Nachweis des Arbutin. *Pharm. Centralh.*, 47, 945, 1906.

L'andromédotoxine est soluble dans l'alcool, l'alcool amylique, le chloroforme, les alcalis dilués, l'acide acétique glacial, presque insoluble dans l'éther, l'éther de pétrole, le sulfure de carbone, un peu soluble à chaud dans la benzine, le terpinol, la glycérine.

**Réactions de l'andromédotoxine.** — D'après PLUGGE :

1° L'acide sulfurique concentré colore l'andromédotoxine en rouge brun;

2° L'acide azotique concentré la colore en jaune;

3° L'acide chlorhydrique en vert, passant au violet, puis au rouge;

4° L'acide sulfurique additionné d'acide nitrique donne une coloration rouge;

5° Le réactif de FRÖHDE communique à ce glucoside une couleur bleu foncé.

**Localisation de l'Andromédotoxine.** — La localisation de ce glucoside a été étudiée par TUNMANN (1) à l'aide des méthodes suivantes :

On prive les coupes de tanin et de sucre par une macération de cinq à dix minutes dans l'eau froide, puis on fait agir sur les préparations l'acide chlorhydrique. L'andromédotoxine se colore en bleu gris, puis en rouge violet. Cette coloration est parfois altérée par les matières colorantes et la chlorophylle.

On obtient de bons résultats en laissant les vapeurs d'acide chlorhydrique agir sur les préparations placées, dans une goutte d'eau, sur la lamelle: le contenu des cellules à andromédotoxine est coloré en rouge sang.

L'acide phosphorique à 25 p. 100 colore également ces cellules en rouge violet. La réaction est plus nette avec l'acide phosphorique anhydre. On dépose un peu de ce corps sur la lame, avec les coupes; on recouvre d'une lamelle et l'on fait fondre l'anhydride par une simple élévation de température au-dessus d'une petite flamme. Il se forme des boules sphériques rouge violacé dans les cellules à glucoside.

**Répartition de l'Andromédotoxine.** — Dans l'*Andromeda Polifolia* L., l'andromédotoxine se trouve répartie de la façon suivante :

Dans le parenchyme de la nervure de la feuille, dans le tissu spongieux du limbe, dans l'épiderme inférieur et aussi un peu dans l'épiderme supérieur. Elle fait défaut dans le tissu palissadique et les poils sécréteurs.

Dans la tige, on la trouve dans l'épiderme, le parenchyme de l'écorce primaire, en petite quantité dans les rayons médullaires du bois et de la moelle.

Dans la fleur, les carpelles, les ovules et particulièrement leurs tégu-

1. O. TUNMANN : Beiträge zur angewandten Pflanzenmikrochemie. Ueber den Nachweis und die Lokalisation des Andromedotoxins in Ericaceen. *Apothek Zeit.*, 26, 555-557, 1911.

ments, sont riches en glucoside. On ne le trouve jamais dans le pollen, les longs poils des anthères, les filets, et les cellules à oxalate de calcium.

Dans l'*A. dahuricum* L. (?), *A. Castesbaei* Walt., *A. formosa* Vall., *A. japonica* Thunb., la répartition est la même, avec une intensité moins grande pour *A. Catesbaei*.

Dans l'*Azalea pontica* L. l'andromédotoxine se trouve surtout dans le tégument des ovules, dans les assises sous-épidermiques des parois de l'ovaire. La corolle, le calice renferment également du glucoside. Ce dernier fait défaut dans le filet, l'anthère, le pollen, le style, les cellules à oxalate de calcium.

Dans la feuille et la tige des *Bruckenthalia spiculifolia* Rehb., *Kalmia latifolia* L., *Menziesia polifolia* Juss., *Pernettya nigrans* Hort. (?), la répartition est la même que dans *Andromeda polifolia* L.

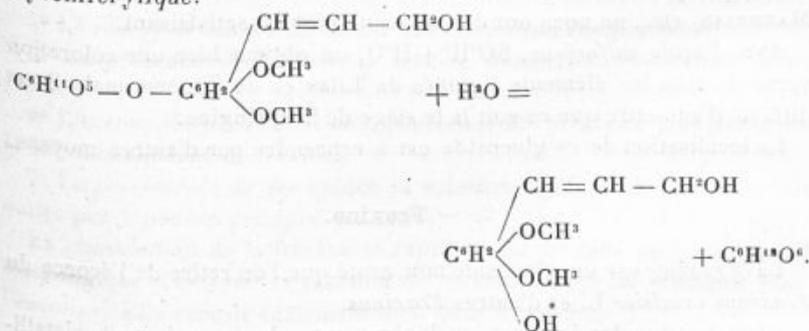
O. TUNMANN n'a obtenu aucune réaction avec *Rhododendron hirsutum* L., *Gaultheria procumbens* L., *Arctostaphylos Uva-ursi* Spreng., et ce résultat concorde avec les recherches microchimiques faites par PLUGGE, EYKMAN, G. BOORSMA, LASCHÉ.

## OLÉACÉES

### 1. - Syringine.

La *Syringine*, appelée parfois *Ligustrine*, *Lilacine*, a été extraite des fruits et des écorces du Lilas (*Syringa vulgaris* L.) et du Troène (*Ligustrum vulgare* L.). C'est un dérivé méthoxylé de la coniférine, une méthoxyconiférine.

Elle cristallise en longues aiguilles blanches, peu solubles dans l'eau froide, solubles dans l'eau chaude et l'alcool, insolubles dans l'éther. Par hydrolyse, elle donne du *Glucose* et de la *Syringénine* ou alcool méthoxyconiférylique.



1. J. M. LASCHÉ : Examination of some of the poisonous Ericaceæ of North America. *New-Yorker Pharm. Rundsch.*, 7, 208, 1889.

**Caractères microchimiques.** — Avec l'*acide sulfurique*, elle donne une coloration rouge violet intense. Les solutions aqueuses de ce glucoside donnent une coloration rouge cramoisi avec le même acide; dilué avec de l'eau, ce mélange laisse déposer des flocons bleu foncé.

**Méthodes de localisation et Répartition du glucoside.** — La localisation de la syringine a été réalisée par Borscow (1), dans le *Syringa vulgaris* L., au moyen de l'acide sulfurique qui colore cette substance en bleu foncé. On traite les coupes longitudinales et transversales par de l'*acide sulfurique un peu dilué* (1 goutte d'acide sulfurique et 2 gouttes d'eau). Dès que cette solution a pénétré dans les coupes, immédiatement, toutes les membranes des cellules ligneuses, des fibres péricycliques et des rayons médullaires, se colorent en jaune vert. Au bout de quelques moments, cette coloration passe au bleu. Les membranes cellulaires de toutes les autres parties de tissu, ainsi que le contenu cellulaire, restent absolument incolores.

Avec un acide plus dilué (1 pour 5), la réaction se fait lentement et ne se produit souvent qu'après deux heures de contact.

Avec l'acide sulfurique concentré, la réaction est des plus nettes, mais le tissu est trop rapidement détruit.

La feuille et le fruit n'en renferment pas; la fleur, seulement une très petite quantité.

Le glucoside est plus abondant en mars qu'en avril; il disparaît pendant la période végétative.

La syringine se trouverait donc, comme la coniférine, dans tous les éléments ligneux (fibres libériennes et ligneuses, vaisseaux du bois).

Borscow ne sait pas si elle se forme sur place par transformation chimique des membranes cellulaires — ce qui est peu probable — ou bien si elle est formée dans le protoplasma des cellules et pénètre ensuite dans la membrane cellulaire.

Les quelques essais que nous avons faits avec les *réactifs de FRÖHDE, MANDELIN*, etc., ne nous ont donné aucun résultat satisfaisant.

Avec l'*acide sulfurique*,  $SO^4H^2 + H^2O$ , on obtient bien une coloration verte de tous les éléments lignifiés du Lilas et du Troène, mais il est difficile d'admettre que ce soit là le siège de la syringine.

La localisation de ce glucoside est à reprendre par d'autres moyens.

## 2. — Fraxine.

La *Fraxine* est un glucoside non azoté que l'on retire de l'écorce du *Fraxinus excelsior* L. et d'autres *Fraxinus*.

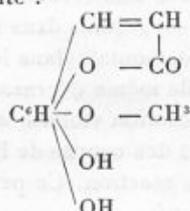
C'est une poudre incolore ou légèrement colorée en jaune, cristalli-

1. Borscow · Beiträge zur Histochemie der Pflanze. *Bot. Zeit.*, 32, 36, 1874.

sant sous forme d'aiguilles. Elle est peu soluble dans l'eau et l'alcool froids, mais plus soluble à chaud. Les solutions alcooliques ou aqueuses présentent une fluorescence bleue très pâle que les alcalis augmentent et que les acides font disparaître.

Par ébullition avec les acides, la fraxine se dédouble en *Glucose* et en *Fraxétine*.

La *Fraxétine*, produit de dédoublement de la fraxine, est un corps cristallisé, peu soluble dans l'eau, un peu plus soluble dans l'alcool, soluble dans l'éther et l'acide chlorhydrique. Sa composition est actuellement bien connue par les travaux de KÖRNER et de BIGINELLI; elle se rapproche beaucoup de la daphnétine et de l'esculine dont elle ne différerait que par un groupe méthoxy. Sa constitution serait alors représentée par la formule suivante :



La position des oxhydriles reste indéterminée.

**Caractères microchimiques.** — Les réactions que donne la fraxine sont peu nombreuses et peu susceptibles d'application aux recherches microchimiques. Citons cependant quelques-unes d'entre elles :

1° Si, dans un verre de montre, où l'on a mis 2 à 5 gouttes de *liqueur de Labarraque* et 1 goutte d'*acide chlorhydrique*, on ajoute un peu de fraxine, on obtient une coloration rose ;

2° L'*acide sulfurique* à 66° produit une coloration jaunâtre ;

3° L'*acide sulfurique hydraté*, additionné de *séléniate de soude*, ne donne aucune réaction ;

4° Le *réactif de MANDELIN* donne une coloration rouge fugace ;

5° En présence d'un *alcali*, la fraxine donne une coloration jaune soufre ;

6° L'*acétate de plomb ammoniacal* produit un précipité jaunâtre dans la solution aqueuse de fraxine ;

7° Le *perchlorure de fer* colore la solution aqueuse en vert et y fait naître peu à peu un précipité jaunâtre.

La constitution de la fraxine se rapprochant de celle de l'esculine, il était logique d'essayer la réaction de SONNENSCHNIG, si pratique pour l'esculine. Elle réussit également bien pour la fraxine.

Des cristaux de fraxine, touchés avec 1 goutte d'*acide azotique*, prennent une coloration brunâtre que l'addition d'*ammoniaque* fait passer au rouge marron.

**Localisation de la Fraxine.** — La localisation de la fraxine a été réalisée par nous <sup>(1)</sup> au moyen : 1° de la réaction de SONNENSCHNEIN, et 2° de l'action des *alcalis* :

1° Pour exécuter la *réaction* de SONNENSCHNEIN, les coupes sont placées dans le réactif (acide azotique ferrugineux, 2 parties; eau 1 partie) et abandonnées de 2 à 4 secondes; 2 suffisent généralement; on les porte aussitôt après dans l'ammoniaque un peu diluée (ammoniaque 2 parties, eau 1 partie). La coupe prend rapidement une teinte violacée; on la retire aussitôt, on la lave dans l'eau et on la monte en glycérine. Cette réaction, semblable à celle qu'on emploie pour la localisation de l'esculine, est plus difficile à effectuer avec la fraxine. Il y a souvent une grande diffusion de la teinte, de sorte que toute la coupe, sauf le bois et le péricycle sclérifié, prend une teinte rose uniforme. Cet inconvénient provient de ce que la fraxine est soluble dans l'acide azotique et l'ammoniaque; aussi deux secondes de contact dans le réactif de SONNENSCHNEIN sont-elles suffisantes. Il est de même nécessaire de retirer la coupe de l'ammoniaque, dès que la coloration violette commence à apparaître. Le temps nécessaire au transport des coupes de l'ammoniaque dans l'eau de lavage suffit pour terminer la réaction. Ce petit artifice permet alors de se servir utilement de ce réactif.

Le phénomène de diffusion, qui pourrait induire en erreur un observateur non habitué à ces recherches microchimiques, peut facilement être mis en évidence de la façon suivante. La coupe est plongée une seconde dans le réactif de SONNENSCHNEIN et placée ensuite sur une lame porte-objet. On dispose, près de la lamelle recouvrant la préparation, 1 goutte d'ammoniaque qui, par capillarité, arrive bientôt au contact de la coupe.

Les cellules à glucoside se colorent d'abord seules, puis, la teinte diffusant peu à peu, toute la préparation ne tarde pas à prendre une coloration rose uniforme.

2° Pour localiser la fraxine au moyen des alcalis, nous employons :

Une *solution de potasse* à 2 p. 100 (une solution à 1 p. 100 n'est pas suffisamment concentrée et à 4 p. 100 la concentration est trop forte).

Une *solution d'ammoniaque à parties égales avec l'eau ou la glycérine*, l'ammoniaque concentrée ayant l'inconvénient de la potasse à 4 p. 100.

L'*eau de chaux* est dans ce cas un excellent réactif, le meilleur à notre avis.

Les coupes sont plongées dans l'un ou l'autre de ces réactifs et y sont abandonnées une ou deux secondes, sauf dans le cas de l'eau de chaux.

1. A. GORIS : Recherches microchimiques sur quelques glucosides et quelques tanins végétaux. *Thèse Doct. Sc.*, Paris, 91, 1903.

où l'on peut les laisser jusqu'à trente secondes ; on les retire et on monte aussitôt dans la glycérine.

Cette méthode est préférable à la précédente et les cellules à glucoside sont faciles à distinguer, grâce à la coloration jaune qu'elles prennent dans ces conditions.

**Répartition du glucoside dans l'écorce du *Fraxinus excelsior* L.** La fraxine se trouve en grande abondance dans le phelloderme, l'endoderme et dans les cellules de la périphérie de la moelle, au voisinage du bois. Le parenchyme libérien, les rayons médullaires donnent une réaction peu intense ; le parenchyme cortical, contrairement à ce que l'on trouve chez le Marronnier, est assez riche en cellules à glucoside. Toutes les cellules situées immédiatement au-dessous de l'anneau fibreux péricyclique donnent la réaction, formant ainsi une ligne colorée qui, avec celle donnée par l'endoderme, encadre pour ainsi dire l'anneau scléreux. Toutes les cellules des rayons médullaires contiennent de la fraxine.

Le suber ne semble pas renfermer de glucoside. (Fig. 9).

Les cellules qui donnent la réaction caractéristique de la fraxine renferment également un corps qui donne toutes les réactions des composés tanniques.

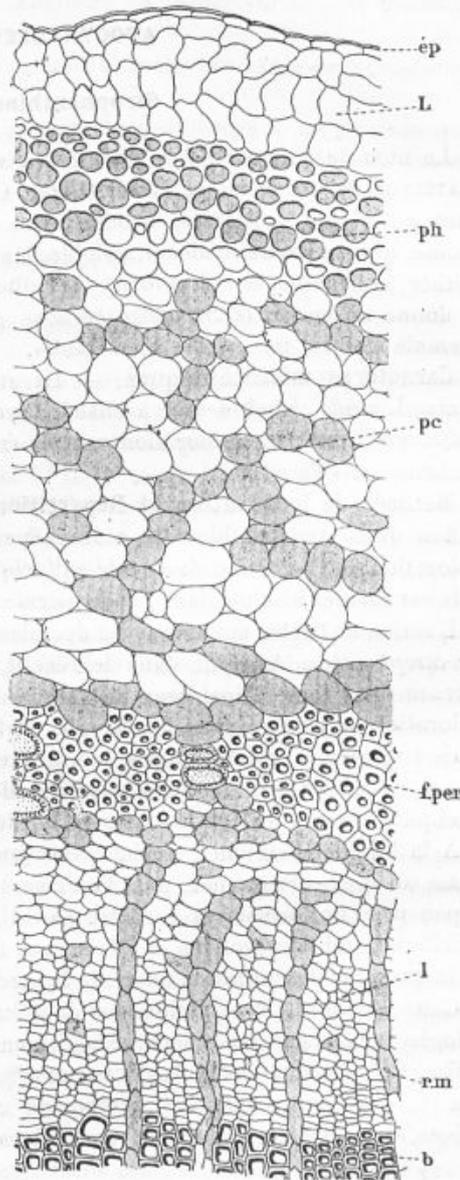


FIG. 9. — Répartition de la Fraxine dans l'écorce du *Fraxinus excelsior* L.

## APOCYNACÉES

## Strophanthine.

Le nom de *Strophanthine* doit être réservé au glucoside retiré par CATILLON du *Strophanthus Kombe* Oliver. C'est un corps blanc, cristallisant en aiguilles radiées, soluble dans quarante-cinq parties d'eau froide, quinze parties d'alcool, soluble dans la glycérine, insoluble dans l'éther, la benzine, le chloroforme, le sulfure de carbone. Par hydrolyse, il donne un sucre, le *Strophanthobiose* et de la *Strophanthidine*. La formule n'en est pas encore bien établie.

**Caractères microchimiques.** — La strophanthine précipite par le tannin. L'acide chlorhydrique à chaud donne une couleur verte; l'acide sulfurique donne une coloration vert émeraude intense passant ensuite au brun, puis au noir.

**Méthode de localisation et Répartition du glucoside.** — La localisation de la strophanthine fut réalisée par HARTWICH au moyen de la coloration due à l'action de l'acide sulfurique. Il a montré que le glucoside est surtout localisé dans l'endosperme et l'embryon.

L'action de l'acide sulfurique est des plus remarquables sur une graine de *Strophanthus*. Aussitôt dans le réactif, la coupe se colore en vert intense dans toute l'épaisseur de l'albumen. Au bout d'une minute, la coloration se montre dans l'embryon, parfois avec une teinte bleuâtre, mais toujours la coloration est moins vive que dans l'albumen. Cette réaction débute par la couche épidermique, de sorte que pendant quelques instants les cotylédons sont bordés d'un liséré vert.

A la longue, l'albumen devient vert jaunâtre, l'embryon tout entier passe au bleu vert intense, puis finalement toute la préparation devient à peu près uniformément verdâtre par diffusion de la coloration. Les laticifères, qui sont voisins des faisceaux fibro-vasculaires du tégument de la graine, contiendraient aussi de la strophanthine.

Cette réaction microchimique est de première importance en pharmacologie, car elle permet de séparer facilement les graines de *Strophanthus*.

En effet, HARTWICH<sup>(1)</sup>, L. PLANCHON<sup>(2)</sup> et, plus récemment, V. PAYRAU<sup>(3)</sup> ont montré que les graines de *S. hispidus* D C., *S. Kombe* Oliver, *S. minor* Pax. donnent une coloration verte par l'acide sulfu-

1. HARTWICH : Beitrag zur Kenntniss der Strophanthussamen. *Arch. d. Pharm.*, 230, 411, 1892.

2. L. PLANCHON : Produits fournis à la matière médicale par la famille des Apocynées. Montpellier, 1894.

3. V. PAYRAU : Recherches sur les *Strophanthus*. *Thèse Doct. Un. pharm.*, Paris, 1900.

rique, tandis que le *Strophanthus glabre* du Gabon (*S. gratus* Franch.) et le *Strophanthus laineux* du Zambèze (*S. asper* Oliver), ne donnent pas cette réaction.

On sait maintenant que le *S. gratus* Franch. renferme de l'*Ouabaïne* et non de la strophanthine.

La réaction microchimique permet donc d'identifier les graines qui renferment de la strophanthine et doivent être employées en pharmacie.

## LABIACÉES

### Scutellarine.

La *Scutellarine* est un glucoside retiré par TAKAKASHI du *Scutellaria lanceolaria* Miq. et retrouvé par HANS MOLISCH et GUIDO GOLDSCHMIDT dans toutes les espèces de *Scutellaria* et dans quelques *Galeopsis* et *Teucrium* (Labiées). Sa formule est  $C^{22}H^{30}O^{12} + 2\frac{1}{2}H^2O$ . Elle se décompose en donnant la *Scutellaréine*  $C^{13}H^{10}O^6$  et un sucre en  $C^6$ .

**Méthodes de localisation et Répartition de la Scutellarine.** — La localisation de ce composé a été réalisée par HANS MOLISCH et GUIDO GOLDSCHMIDT (1) de la façon suivante :

On soumet les feuilles entières aux vapeurs d'acide chlorhydrique produites par un dispositif spécial que chacun peut imaginer. Après une ou plusieurs heures, les feuilles sont devenues brunes par suite de la destruction de la chlorophylle. On les met alors dans une solution d'hydrate de chloral pour éclaircir les tissus. Dans l'épiderme supérieur, on trouve de nombreux sphérîtes, parfois isolés, parfois groupés, de 0,1 millimètre de diamètre.

Pour conserver les préparations, on les lave rapidement dans l'eau, puis on les laisse une demi-heure dans un mélange à parties égales d'eau et de glycérine, et finalement on les conserve dans la glycérine pure.

On peut également obtenir la réaction avec des coupes de la feuille. On met les préparations dans l'acide chlorhydrique à 10 p. 100. Après un temps assez long, on constate la formation de sphérîtes ou d'aiguilles groupées en étoiles ou en faisceaux. Il faut contrôler l'identité du corps par l'action successive de l'eau de baryte et de l'iode. Après avoir lavé les coupes dans l'eau, on fait passer sous la lamelle de l'eau de baryte, puis une solution de chloral iodé. Dans ces conditions, les coupes prennent une coloration rouille, et les tissus qui renferment la scutellarine

1. H. MOLISCH et G. GOLDSCHMIDT : Ueber das Scutellarin, einen neuen Körper bei *Scutellaria* und anderen Labiaten. *Monatshefte f. Chemie*, 22, 680, 1901.

deviennent d'un beau vert malachite, pendant que l'hydrate de chloral éclaircit la préparation.

Dans le *Scutellaria altissima* L., la racine renferme peu de scutellarine. La tige et le pétiole en renferment, mais en très petite quantité, dans l'épiderme supérieur et le parenchyme cortical.

La feuille est le siège principal de ce glucoside, où il est principalement localisé dans l'épiderme supérieur.

Dans la fleur : calice, corolle et gynécée sont riches en scutellarine.

Le *Scutellaria hastifolia* L., *S. alpina* L., *S. laterifolia* L., *S. galericulata* L., *S. viscida* Spreng., *S. japonica* Morr. et Decsne ont donné des réactions positives.

On a retrouvé la scutellarine chez quelques *Labiées*. Il y en aurait dans *Galeopsis Tetrahit* L., *Teucrium Chamædrys* L. Par contre, *Lamium album* L., *L. maculatum* L., *Glechoma hederacea* L., *Thymus Serpyllum* L., *Ballota nigra* L., *Teucrium Botrys* L., *Leonurus villosus* Desf., *L. tataricus* L., *Mentha sylvestris* L., *Nepeta nuda* L., *N. nepetoides* L. ne renfermeraient pas ce composé.

## CUCURBITACÉES

### 1. — Bryonine.

La *Bryonine* a été trouvée par DULONG (1) dans les racines de Bryone (*Bryonia dioica* Jacq.). C'est un corps amorphe, soluble dans l'eau, l'alcool, insoluble dans l'éther. Par hydrolyse, elle donne du *Glucose* et de la *Bryorétine*,  $C^{12}H^{22}O^{11}$ .

**Caractères microchimiques.** — 1° *Acide sulfurique* pur ou additionné de *phénol* : coloration rouge sang assez persistante ;

2° *Réactif de FRÖHDE* : coloration rouge puis verte ;

3° *Réactif de MANDELIN* : coloration rouge sang devenant bleu violacé ;

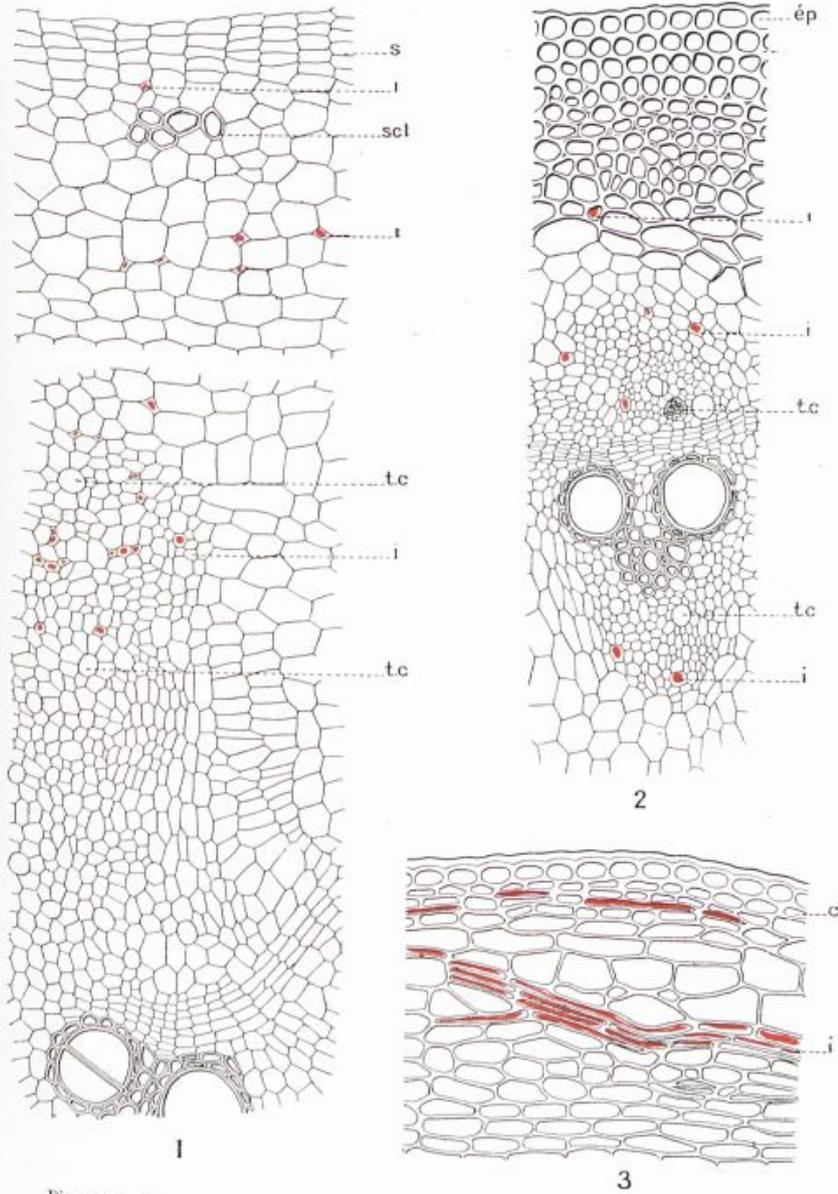
4° *Azotate d'argent*, solution au 1/100 : précipité rouge vermillon.

**Méthodes de localisation.** — La localisation de ce glucoside a été réalisée par L. BREMER (2) au moyen des réactifs précédents.

Pour obtenir facilement la réaction, l'auteur recommande d'éviter de mettre l'acide sulfurique additionné de *phénol* en contact direct avec les coupes : l'acide détériore les tissus et engendre des bulles d'air qui nuisent à l'examen de la préparation. L'acide sulfurique étendu d'eau ou de

1. DULONG D'ASTAFFORT : Analyse chimique de la racine de Bryone. *Journ. Pharm.*, 12, 154, 1826.

2. L. BREMER : De la localisation des principes actifs des Cucurbitacées. Toulouse, 1893.



D'après L. BRÄMMER.

*Bryonia dioica* L. ; 1, racine ; 2, tige ; 3, péricarpe





glycérine n'est pas à recommander, le principe colorable étant dissous, dans ces conditions, avant que l'on ait pu observer la réaction.

Il est donc préférable, après avoir fait macérer la racine fraîche ou sèche dans l'éther, de recevoir les coupes dans le même liquide, et de les transporter de là dans un mélange de 5 volumes d'éther et 1 volume d'acide sulfurique (1). Ce mélange est suffisamment consistant pour ne pas s'étaler sur la lame; après avoir recouvert avec la lamelle, on chasse l'éther en maintenant la préparation quelques secondes sur une plaque chauffante.

On peut encore opérer plus facilement en déposant une goutte de glycérine pure et concentrée sur le porte-objet et en ajoutant, au bord de la lamelle, de l'acide sulfurique phénolique, que l'on fait arriver sur la coupe en soutirant la glycérine au moyen d'une bande de papier à filtrer. On peut ainsi suivre la coloration sous le microscope.

Ces colorations persistent plusieurs jours, mais ne gardent leur netteté qu'une demi-journée, après avoir mis une demi-heure environ à apparaître.

La même technique doit être employée pour les *réactifs* de FRÖHDE et de MANDELIN.

Pour la réaction au *nitrate d'argent*, on opère ainsi : les coupes, au sortir de l'éther, sont placées dans une solution aqueuse ou glycérique d'azotate d'argent au 1/100. Au bout d'un certain temps de contact, on lave à l'eau distillée légèrement ammoniacale; quelques heures plus tard, on observe un précipité rouge vermillon dans les cellules à bryonine. Cette coloration persiste quelques jours, puis le précipité devient noir.

**Répartition de la Bryonine.** — La bryonine se trouve exclusivement située dans des *cellules spéciales* (idioblastes) dont le contenu se colore également bien par le bleu d'aniline en solution aqueuse. Sur une coupe longitudinale, ces éléments apparaissent comme des tubes allongés, cylindriques, renflés à leurs deux pôles et superposés bout à bout. Ils forment ainsi des files articulées rectilignes ou, plus souvent, sinueuses et, très souvent, ramifiées. D'après BRÆMER, ils se rapprocheraient des laticifères du type articulé. (Fig. 10).

Ils se distinguent facilement des tubes criblés par leurs dimensions. Ces derniers atteignent 30 à 40  $\mu$  de diamètre au lieu de 10  $\mu$  pour les idioblastes. Leur répartition est la suivante :

*Racine.* — Le parenchyme cortical et le liber, surtout dans la partie externe, peu riche en tubes criblés, renferment les cellules spéciales à bryonine. On en trouve aussi au bord des rayons médullaires qui séparent les faisceaux. (Pl. XXVII, 1).

1. Ou mieux encore de l'acide sulfurique additionné de phénol.

*Tige.* — Ces éléments sont rares dans le parenchyme cortical ; ils sont alors situés contre le collenchyme, assez fréquemment contre la face interne de l'anneau péricyclique et dans le tissu parenchymateux situé entre celui-ci et le faisceau. Ils sont fréquents à la périphérie des libers externe et interne. Les cellules à bryonine de la tige diffèrent de celles de la racine par la longueur plus grande de leurs articles. (Pl. XXVII, 2).

*Feuille.* — Au pourtour des libers des faisceaux de la nervure principale et des nervures secondaires. Ils se retrouvent dans les nervures accompagnant une ou deux trachées.

*Fruit.* — Autour des nombreux faisceaux du mésocarpe. (Pl. XXVII, 3)

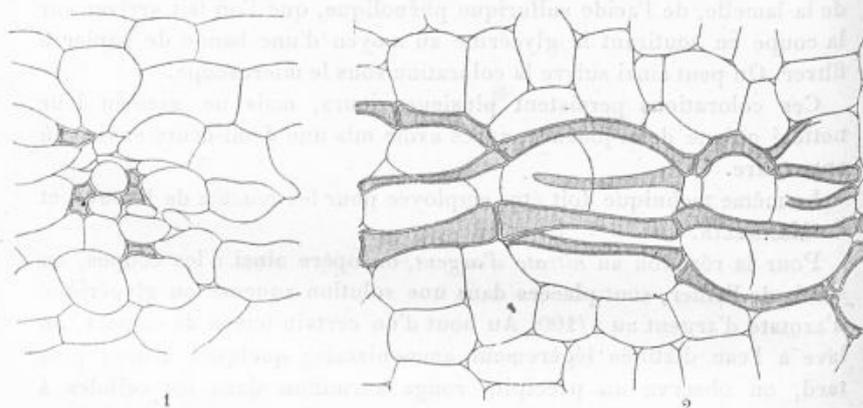


FIG. 10. — Laticifères de la racine de Bryone : 1, coupe transversale ; 2, coupe longitudinale.

*Graine.* — Les cellules spéciales accompagnent les faisceaux du tégument de la graine.

Les réactions indiquées par BRÆMER se font facilement en suivant sa technique. La coloration est parfois moins vive que ne l'indique l'auteur, mais, malgré cela, la forme et le contour de ces « laticifères » sont faciles à étudier, surtout sur les coupes longitudinales.

## 2. — Colocynthine.

La *Colocynthine* a été retirée par WALZ des fruits de la Coloquinte (*Citrullus Colocynthis* Schrad.). Elle a pour formule  $C^{29}H^{40}O^{11}$ . C'est un corps amorphe, soluble dans l'eau et l'alcool, insoluble dans l'éther, se dédoublant sous l'action des acides en *Glucose* et *Colocynthéine*.

**Caractères microchimiques.** — Ce glucoside présente quelques réac-

tions colorées qui ont été utilisées par L. BREMER (1) pour la localisation.

- 1° *Acide sulfurique* additionné de *phénol* : coloration rouge sang.
- 2° *Réactif de FRÖHDE* : coloration rouge cerise intense.
- 3° *Réactif de MANDELIN* : coloration rouge cerise.
- 4° *Potasse à chaud* : coloration jaune.
- 5° La *liqueur de FEHLING* est réduite sans dédoublement préalable par un acide.

**Méthodes de localisation.** — On doit employer la technique que nous venons de décrire pour la recherche de la Bryonine.

**Répartition de la Colocynthine dans le *Citrullus Colocynthis* Schrad.**

— A. VOGL avait émis l'opinion que le principe actif de la Coloquinte se trouvait situé dans les tubes criblés. Ce résultat, obtenu par l'action de la potasse à chaud, n'a pas été confirmé par les recherches de L. BREMER. Pour ce savant, la colocynthine se trouve située, comme chez la Bryone, dans les cellules spéciales (idioblastes), et rien que dans ces éléments. La répartition de ces idioblastes est la suivante :

*Tige.* — A l'intérieur du collenchyme, mais le plus souvent à la périphérie des libers interne et externe.

*Feuille.* — La face inférieure et surtout la supérieure des nervures sont riches en idioblastes. Les petites nervures ne renfermant que quelques trachées sont elles-mêmes bordées, soit des deux côtés, soit du côté supérieur seulement, par une file d'idioblastes à articles courts.

*Fruit.* — Au voisinage des nombreux faisceaux du mésocarpe, et aussi dans le parenchyme où ils constituent un réseau très caractéristique.

La *racine* n'a pas été étudiée.

### 3. — Élatéride.

L'*Elatérine* est un principe retiré de l'*Ecballium Elaterium* A. Rich. Sa nature glucosidique est mise en doute par certains chimistes, et tout dernièrement, BERG (2) a montré que l'élatérine provient du dédoublement d'un glucoside, l'*Élatéride*, sous l'action d'un ferment spécial existant dans la plante.

**Caractères microchimiques.** — Elle donne, avec l'*acide sulfurique*, une couleur rouge sang.

Les *réactifs de FRÖHDE* et de *MANDELIN* ne donnent que des colorations fugaces. Ces réactions sont beaucoup plus faciles à réaliser qu'avec la bryonine, car le produit n'est pas soluble dans l'eau.

1. L. BREMER : *Loc. cit.*, p. 47.

2. BERG. *Etude chimique et physiologique de l'Elaterium*. Toulouse, 1913.

Un mélange, à volumes égaux, d'*acide sulfurique* et de *phénol*, lui communique une très belle coloration carmin.

**Méthode de localisation et Répartition de l'Élatéride.** — La localisation de ce glucoside a été réalisée par L. BREMER, qui a montré que ce composé était, comme la bryonine, situé dans des organes spéciaux (idioblastes), localisés de la façon suivante :

*Racine.* — Parenchyme cortical, périphérie du liber.

*Tige.* — Parenchyme cortical au voisinage du collenchyme, anneau péricyclique, et parties périphériques des libers interne et externe.

*Feuille.* — Dans les libers des faisceaux.

*Fruit.* — Dans les libers des faisceaux du mésocarpe.

## RUBIACÉES

### 1. — Acide Rubérythrique et Glucosides de la Garance.

L'*acide Rubérythrique* existe dans la racine du *Rubia tinctorum* L. Il cristallise en prismes soyeux, jaunes, fusibles à 258°; il est peu soluble dans l'eau froide, plus soluble à chaud, difficilement soluble dans l'alcool; il se dissout dans les alcalis avec une coloration rose.

Sous l'action des acides, il se dédouble en *Glucose* et *Alizarine*



L'*Alizarine* cristallise en aiguilles rouges, fusibles à 289°. Elle est insoluble dans l'eau, plus soluble dans l'eau bouillante, et surtout dans l'alcool, l'éther, le sulfure de carbone, l'acide acétique, la glycérine. Elle se dissout dans l'acide sulfurique concentré sans s'altérer, dans les alcalis caustiques et carbonatés en donnant une solution bleu violet.

A côté de l'acide rubérythrique, il existe dans la Garance d'autres glucosides parmi lesquels le *glucoside de la Purpurine* et le *glucoside de la Rubiadine*. Ce dernier glucoside a pour formule  $C^{21}H^{20}O^9$ ; il cristallise en aiguilles jaunes, fusibles à 270°; il est très difficilement soluble dans l'eau bouillante, soluble dans l'alcool, l'éther, et se dédouble par hydrolyse en *Glucose* et *Rubiadine*.

Le *glucoside de la Purpurine* est très instable et on ne le connaît que par ses produits de dédoublement : *Glucose* et *Purpurine*.

**Caractères microchimiques.** — 1° La solution de potasse à 1 p. 100 dissout ces glucosides en donnant une belle coloration rouge.

2° L'eau de chaux et l'eau de baryte produisent une réaction identique.

3° Les acides colorent l'acide rubérythrique en jaune orangé.

4° Le perchlorure de fer lui donne une coloration variant de l'orangé au rouge brun.

**Méthodes de localisation.** — CHEMINEAU (1) a essayé l'emploi de ces solutions alcalines pour étudier la localisation des glucosides de la Garance.

L'eau de baryte, l'eau de chaux, la solution de potasse à 1 p. 100 ne lui ont pas donné de résultats satisfaisants. La coloration diffuse trop rapidement et il est impossible d'affirmer exactement dans quelles cellules a pris naissance la réaction.

Une coupe de racine fraîche de *Rubia tinctorum* L. montre une matière d'un beau jaune d'or semblant remplir indistinctement toutes les cellules et ne présentant aucune répartition bien nette. Pour mieux mettre en évidence ce principe jaune, avant de faire agir les alcalis, CHEMINEAU emploie une solution de chlorure de sodium hypertonique (2). Il plonge donc les coupes dans une solution à 5 p. 100 pendant cinq à dix minutes, puis les monte directement dans cette même solution. Il se produit une action osmotique, qui a pour but de contracter la vésicule cellulaire et de la détacher de la membrane. On voit alors de petits globules d'un beau jaune d'or, réfringents, n'ayant aucun contact avec les parois de la cellule. Si l'on traite les coupes, sur lesquelles on a fait agir la solution saline, par la potasse excessivement diluée, les cellules jaunes seules prennent immédiatement une couleur rouge orange sans aucune diffusion. La réaction est assez rapide, et il y a lieu d'opérer sous le microscope, mais le temps nécessaire à l'examen est suffisant pour affirmer dans quelles cellules est apparue la coloration. (Pl. XXVIII).

CHEMINEAU a essayé également la localisation de l'acide rubérythrique en se basant sur l'insolubilité de cet acide dans l'alcool absolu.

A cet effet, il dépose une coupe de racine sur une lame et recouvre le tout d'une lamelle, puis fait arriver sous cette dernière de l'alcool absolu. Au bout de quelques minutes, on voit apparaître de petites masses rougeâtres qui, après un quart d'heure, ont pris l'aspect cristallin. On peut également obtenir d'excellentes préparations en laissant en contact, avec de l'alcool à 96°, des fragments de racines ou de rhizomes (Pl. XXIX).

Cette matière cristalline rouge, ainsi obtenue par l'action de l'alcool, ne saurait être attribuée à des sels minéraux que les réactifs auraient précipités, mais bien à un dérivé de l'antraquinone, car, si l'on fait agir la potasse sur les cristaux, ceux-ci se dissolvent et prennent une coloration rouge sang uniforme.

Est-ce bien l'acide rubérythrique qui cristallise de cette façon? C'est très possible, car cet acide est insoluble dans l'alcool.

1. CHEMINEAU : Recherches microchimiques sur quelques glucosides. *Th. Doct. Un. Pharm., Paris 1904.*

2. On peut également employer des solutions de nitrate de potassium, chlorure d'ammonium, glucose, etc.

Pourtant, le *Morinda citrifolia* L., qui renferme à la fois la morindine et l'acide rubérythrique, ne donne aucune réaction avec l'alcool. Il est vrai que l'on ne se trouve pas dans les mêmes conditions. De sorte qu'il est difficile de dire si la cristallisation obtenue par action de l'alcool sur les coupes de *Rubia tinctorum* est bien due à l'acide rubérythrique.

Le précipité ne peut être constitué par le glucoside de la rubiadine, qui est soluble dans l'alcool. On ne peut donc le rapporter, à défaut de l'acide rubérythrique, qu'au glucoside de la purpurine ou, comme celui-ci est très instable, à la purpurine elle-même. En effet, celle-ci cristallise dans l'alcool en petites aiguilles rouge foncé. Elle se dissout dans l'eau qu'elle colore en jaune foncé, elle est très soluble dans l'éther, le sulfure de carbone, la benzine et l'acide acétique.

Or, des fragments de Garance, traités par l'alcool, ont été mis ensuite dans l'éther, la benzine, le sulfure de carbone, et les cristaux qui s'y étaient formés se sont dissous dans ces solvants. Ces cristaux sont également solubles dans une solution d'alun de potasse, caractère de la purpurine, qui distingue cette dernière de l'alizarine.

Quoi qu'il en soit, il n'est pas douteux que les glucosides de la Garance existent dans ces éléments cellulaires colorés en jaune, et l'opinion de certains auteurs qui accordent à ce principe initial jaune la valeur industrielle de la plante est parfaitement justifiée.

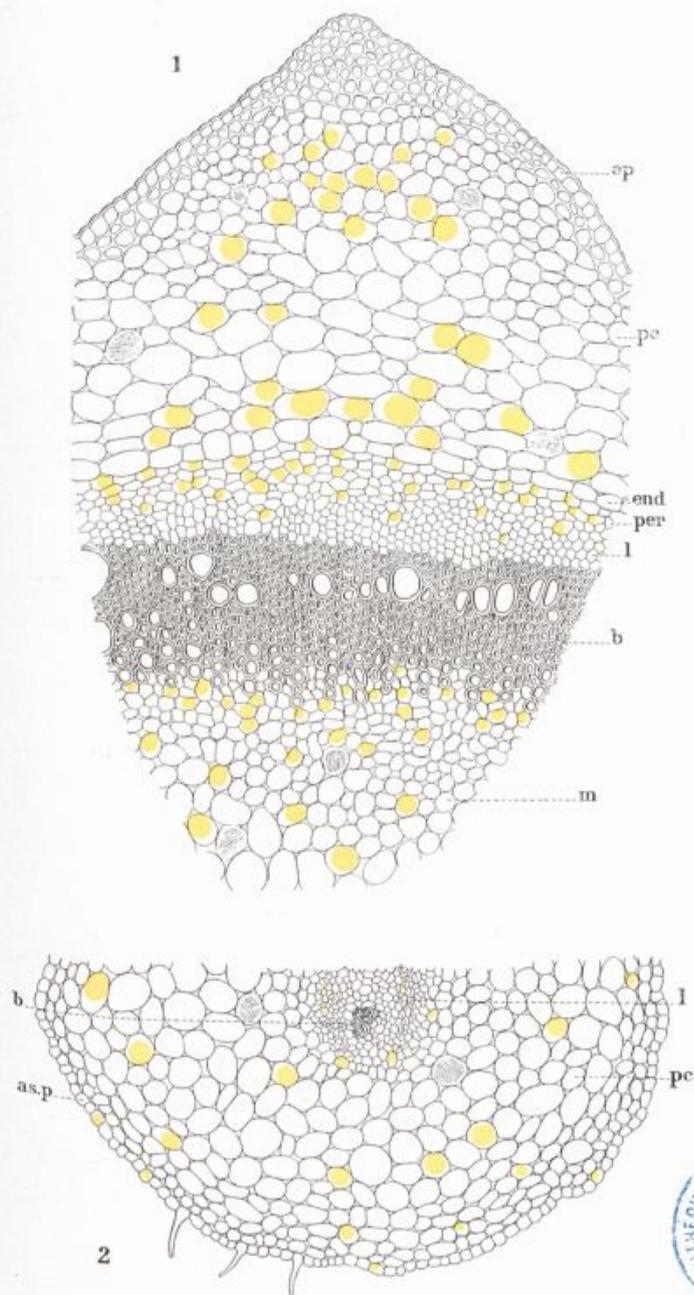
Les recherches microchimiques de CHEMINEAU, conduites avec le plus grand esprit critique, lui ont donc permis de donner une méthode de localisation très pratique, en même temps que très élégante, des glucosides de la Garance.

L'année suivante (1905), H. W. RUSSELL<sup>(1)</sup>, qui ne semble pas avoir eu connaissance du travail de CHEMINEAU, a repris cette question et est arrivé à des conclusions identiques. Pour localiser l'acide rubérythrique, il a recours à l'examen direct des coupes et des cellules colorées en jaune. Il recommande aussi l'action des *vapeurs d'ammoniaque* qui font prendre une coloration rouge pourpre aux cellules à glucosides.

**Répartition des glucosides dans la Garance.** — L'extrémité des organes en voie d'évolution ne renferme jamais de principes colorants. C'est à une certaine distance du sommet qu'ils apparaissent.

*Racine.* — Dans une radicelle, les glucosides chromogènes de la Garance se rencontrent : dans les cellules de la partie externe du parenchyme cortical et, en petite quantité, dans l'endoderme et le péricycle. Le liber donne une réaction intense dans quelques éléments parenchymateux. Dans le bois, on ne trouve que de rares cellules à substance chromogène.

1. W. RUSSELL : Recherches expérimentales sur les principes actifs de la garance. *Rev. gén. de Bot.*, 17, 254-259, 1905.



R. CREMINEAU, del.

BONARD, sc.

*Robia tinctorum* L.; 1, coupe transversale d'une tige butée; 2, coupe transversale de la racine (germination), montrant l'action de la solution de chlorure de sodium à 5 ‰





Dans une radicule plus âgée, l'assise subéro-phellodermique a exfolié tout le parenchyme cortical primaire ; l'acide rubérythrique et les autres glucosides se trouvent surtout dans le phelloderme et dans quelques cellules du parenchyme cortical et du liber. Le cambium, toutefois, est assez riche en principe colorant ; on en trouve également dans quelques cellules du bois.

*Rhizome.* — Le parenchyme cortical secondaire, le liber, le cambium, le bois et la moelle, en un mot tous les parenchyms, en renferment, avec cette particularité que le plus grand nombre de cellules à glucoside se trouve dans la partie externe du phelloderme, le cambium et la périphérie de la moelle, principalement dans la partie adjacente aux éléments ligneux.

Les écailles que portent les tiges souterraines ont leur parenchyme gorgé d'acide rubérythrique. Elles en renferment déjà dans le bourgeon avant leur épanouissement.

La tige, la feuille, les stipules, les organes de reproduction (calice, corolle, androcée et gynécée, fruit et graine) ne renferment pas de glucosides chromogènes.

**Variation des glucosides pendant le cours de la végétation du *Rubia tinctorum* L.** — CHEMINEAU ne s'est pas contenté d'étudier la localisation et la répartition des glucosides de la Garance, il a essayé de déterminer les conditions de leur formation.

A cet effet, il a fait germer des graines de *Rubia tinctorum* à la lumière et à l'obscurité.

Dans les plantes germées à la lumière, il montre que les glucosides apparaissent dès le début de la germination dans la radicule, alors même que les cotylédons sont encore enfermés dans le tégument ; les glucosides existent tout d'abord dans la partie la plus rapprochée de la graine et, au bout de neuf jours, ils n'existent pas encore à un centimètre et demi de l'extrémité de la racine ; vers le onzième jour, ces glucosides commencent à y apparaître, mais l'extrémité de la racine en est toujours dépourvue. Lorsque la gemmule et les deux cotylédons se sont épanouis, les glucosides gagnent la totalité de la radicule, montent graduellement dans l'axe hypocotylé qui, au début, n'en contenait pas trace. Ni dans le pétiole, ni dans la feuille, on ne trouve de matières chromogènes.

Si l'on fait les germinations sous une cloche noire, empêchant tout accès de lumière, et que l'on arrose modérément le pourtour de la cloche, le résultat sera tout différent suivant que l'on prendra les germinations du centre ou de la périphérie.

Les germinations du centre restent entièrement blanches ; les autres, au contraire, sont franchement jaunes. Dans ces dernières, les glucosides chromogènes existent non seulement dans la radicule et l'axe hypocotylé, mais encore dans les pétioles et les feuilles cotylédonaire.

Le glucoside dans la tige et le pétiole se localise dans l'épiderme, le parenchyme cortical autour du cylindre central et dans le liber. Le bois renferme très peu de matière colorante. Dans les feuilles cotylédonaire, la réaction se fait dans la nervure médiane; le mésophylle ne contient aucune trace de glucoside.

Ainsi donc, ces essais de germination ont montré à CHEMINEAU que l'humidité était un facteur nécessaire pour le développement de la matière colorante de la Garance.

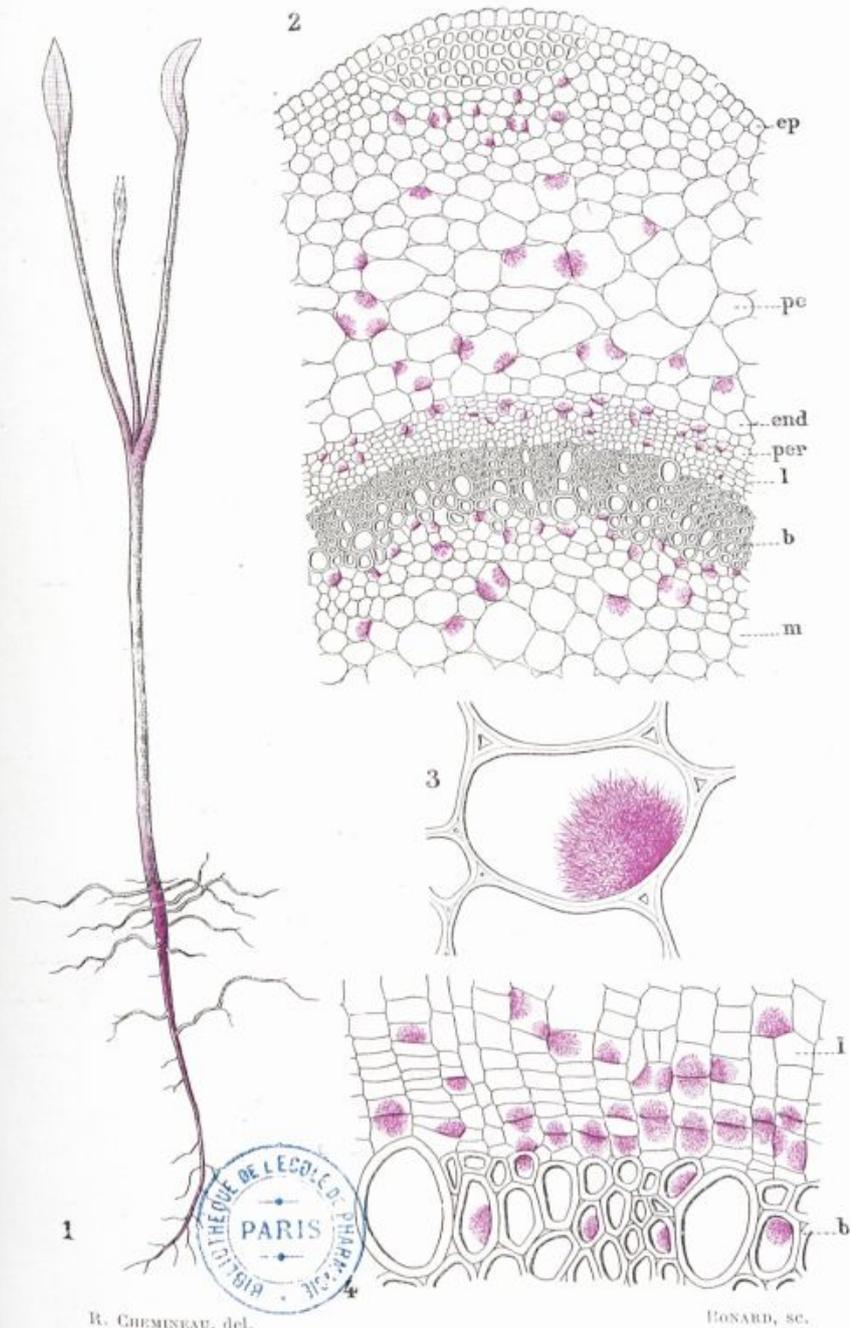
Il montra nettement le bien fondé de cette première expérience en opérant sur des tiges aériennes, qui, normalement, ne renferment pas d'acide rubérythrique. Il plaça une jeune tige munie de rameaux portant feuilles et stipules dans une caisse noire empêchant tout accès de lumière. Au bout de vingt-cinq jours, cette plante, soumise à l'examen, s'était un peu développée et offrait une tige étiolée blanchâtre avec des feuilles et des rameaux très fragiles. Des coupes faites aux nœuds ont montré l'absence de toute trace de matière chromogène. Dans une expérience semblable, il eut soin de faire arriver de l'eau sur cette tige, en quantité suffisante pour maintenir une très légère humidité. Au bout de vingt-cinq jours, elle présentait une couleur jaunâtre s'accroissant aux nœuds et principalement à la base des rameaux secondaires, des feuilles et de leurs stipules. La présence des glucosides put y être facilement démontrée par les réactions indiquées précédemment.

L'humidité et l'obscurité sont donc deux facteurs indispensables au développement des glucosides chromogènes dans toutes les parties de la plante. L'opération du *buttage*, employée autrefois dans la culture de la Garance pour faire développer les matières colorantes dans la tige aérienne, trouve ici son explication.

RUSSELL a constaté, comme CHEMINEAU, que la présence du glucoside était corrélatrice de l'absence de chlorophylle, et il a cherché à prouver ce fait par une expérience inverse de celle de CHEMINEAU.

Des tiges souterraines, après avoir été déterrées, ont été recouvertes de menus branchages, de brindilles, destinés à intercepter partiellement la lumière; ces tiges n'ont pas tardé à émettre des ramifications offrant une légère teinte verte. Dans ces ramifications, la chlorophylle était apparue dans la moelle, le liber, et surtout dans le parenchyme des angles de la tige; par contre, les glucosides occupaient les cellules profondes de l'écorce et seulement quelques cellules de la périphérie. Dans les cellules où l'acide rubérythrique est abondant, il n'y a pas de chlorophylle; on trouve quelquefois des cellules renfermant à la fois chloroleucites et acide rubérythrique, mais il semble y avoir antagonisme entre les deux principes.

Des tiges que l'on force à ramper à la surface du sol renferment de l'acide rubérythrique dans la partie tournée vers le sol, la chlorophylle se montre seule dans la partie supérieure éclairée.



R. CHEMINEAU, del.

HONARD, sc.

*Rubia tinctorum* L.; 1, plantule germée à l'obscurité après immersion de trois heures dans l'alcool à 95°; 2, coupe transversale d'un rameau secondaire soumis à l'opération du buttage; 3, aspect d'une cristallisation de glucoside; 4, assise cambiale d'une racine âgée.



RUSSELL a également constaté que des tiges aériennes recouvertes de terre, au bout d'un mois de buttage, ne présentent aucune trace d'acide rubérythrique ; nous avons vu que CHEMINEAU avait obtenu un résultat identique, mais que, si on maintenait une humidité suffisante, le glucoside apparaissait. Des tiges souterraines, exposées prudemment à la lumière, forment un peu de chlorophylle si elles sont jeunes, et l'on peut constater, dans les cellules où la chlorophylle est apparue, la diminution ou la transformation de l'acide rubérythrique.

Enfin, lorsque les tissus sont en dégénérescence, l'acide rubérythrique se dédouble, très probablement sous l'action d'un ferment particulier : l'*Érythrozyme*; le contenu cellulaire prend peu à peu une coloration rouge. Le pigment se fixe alors sur la membrane.

C'est à un dédoublement analogue, se produisant après l'arrachage et la dessiccation de la plante, que les racines du commerce doivent leur teinte rouge caractéristique.

RUSSELL admet que ce dédoublement peut également se produire dans la vie de la plante, car si l'on contracte par la glycérine le contenu des cellules à glucoside, on voit que la paroi interne des cellules offre presque toujours une coloration rouge. On peut, d'ailleurs, produire expérimentalement cette décomposition en faisant végéter dans l'eau, dans des conditions défectueuses, des tronçons de jeunes tiges munis de quelques racines. On constate, au bout de peu de temps, dans toutes les cellules parenchymateuses, que le glucoside est remplacé par l'alizarine et ses congénères. La plante, pour continuer à vivre, aurait donc dédoublé un des principes qui se trouvaient dans ses tissus.

RUSSELL semble admettre cette hypothèse, car il conclut que « l'acide rubérythrique, à cause de son abondance dans les parenchymes vivants et à cause de la facilité avec laquelle il paraît se dédoubler, ne peut être considéré comme un déchet de l'organisme, et doit être envisagé comme une substance utilisable pendant le cours de la végétation ».

**Répartition des glucosides dans le *Rubia peregrina* L.** — Le *Rubia peregrina* L. est une Rubiacée de nos régions parisiennes qui renferme aussi de l'acide rubérythrique. Il y a une légère différence dans la répartition de ce principe glucosidique, qui existe uniquement dans le parenchyme cortical, le liber et le cambium ; le bois et la moelle en sont totalement dépourvus. La proportion de la matière colorante est d'ailleurs moins grande que dans le *Rubia tinctorum* L.

## 2. — Chlorogénine.

La Garance renferme un glucoside incolore, la *Chlorogénine* ou *acide Rubichlorique* qui, par dédoublement par les acides, donne du *Glucose* et un produit vert bleuâtre insoluble.

D'après WIEMER, ce serait un corps voisin des tanins.

**Méthodes de localisation.** — La localisation et la répartition de ce glucoside ont été faites par W. RUSSELL, au moyen de l'acide sulfurique étendu d'eau, ou de l'acide sulfosélénié légèrement chauffé. Les cellules à chlorogénine prennent une belle coloration vert bleuâtre persistant fort longtemps.

**Répartition de la Chlorogénine.** — La chlorogénine se rencontre aussi bien dans les organes aériens que dans les organes souterrains.

Son lieu d'élection est le liber, mais on en rencontre aussi dans tous les autres tissus parenchymateux.

Les tiges aériennes adultes n'en renferment que dans le liber et à la périphérie de la moelle. Les bourgeons en renferment jusqu'au voisinage de leur point végétatif, mais la teneur en chlorogénine va s'affaiblissant lorsqu'on s'approche du méristème terminal (\*).

La chlorogénine s'accumule dans l'albumen des graines; la plantule, à la germination, en renferme plus dans les cotylédons que dans l'axe végétatif.

Dans les parties souterraines, la chlorogénine se trouve mêlée à l'acide rubérythrique, bien qu'en général ce soient les tissus les plus pauvres en acide rubérythrique qui offrent le maximum de chlorogénine. Elle disparaît peu à peu des tissus en voie de dépérissement et, à la mort de la plante, il n'en reste plus trace.

Pour RUSSELL, la chlorogénine, qui constitue une majeure partie des réserves de la graine, serait un aliment de première nécessité.

## B. — Glucosides azotés.

### GLUCOSIDES A ACIDE CYANHYDRIQUE (\*).

Les glucosides azotés sont très répandus dans le règne végétal. Les plus connus sont les *glucosides à acide cyanhydrique* et les *glucosides à sénévol* (Glucosides des Crucifères, Résédacées, etc.).

Les plantes renfermant un glucoside cyanhydrique sont déjà nom-

1. N. B. — Le point végétatif, l'albumen, quelques cellules libériennes donnent, au lieu d'une teinte vert bleuâtre, une coloration violet rougeâtre. Cette réaction est très probablement due à des substances protéiques, car elle se manifeste encore après un séjour de vingt-quatre heures des préparations dans l'alcool tartrique d'ERRERA.

2. Les lecteurs qui s'intéressent à la cyanogénèse dans les végétaux, trouveront la bibliographie de cette question dans le livre de A.-H. DE PUTMALY. L'acide cyanhydrique dans les plantes vertes. Bordeaux, 1912.

breuses et, chaque jour, une nouvelle découverte vient encore augmenter la liste des végétaux cyanogénétiques.

Les glucosides qui donnent ainsi de l'acide cyanhydrique par dédoublement chimique ou biologique ne sont pas encore nombreux. Pour plus de 250 espèces végétales à acide cyanhydrique, on ne connaît que 10 glucosides, mais il convient d'ajouter que le même glucoside se rencontre parfois dans des plantes très éloignées au point de vue systématique.

On peut diviser ces glucosides en :

1° *Glucosides qui donnent, avec l'acide cyanhydrique, de l'acétone par dédoublement;*

2° *Glucosides qui donnent, avec l'acide cyanhydrique, de l'aldéhyde benzoïque par dédoublement;*

3° *Glucosides ne donnant ni acétone, ni aldéhyde benzoïque.*

Dans le premier groupe, nous trouvons :

1° La *Linamarine*, découverte par JORISSEN et HAIRS (\*) dans le *Linum usitatissimum* L., et retrouvée ensuite par DUNSTAN et HENRY (†) dans le *Phaseolus lunatus* L., d'où le nom de *Phaseolunatine* qu'on lui donne souvent. On la rencontre aussi dans le genre *Manihot*.

Aiguilles incolores, P<sup>t</sup> fusion 141°;  $\alpha_D = -26^{\circ}3$ . Sa formule est C<sup>10</sup>H<sup>17</sup>AzO<sup>6</sup>.

Elle est insoluble dans l'alcool absolu, l'éther ordinaire, peu soluble dans l'acétone et le chloroforme, très soluble dans l'eau.

Par dédoublement, elle donne du *Glucose*, de l'*acide Cyanhydrique* et de l'*Acétone*.

Le second groupe comprend les glucosides proprement dits, c'est-à-dire ceux qui donnent par dédoublement une molécule de glucose, les *Phénylglycolnitrileglucosides*, et ceux qui donnent deux molécules de glucose ou de sucre en C<sup>6</sup> : les *Phénylglycolnitrilebiosides*.

Dans les *Phénylglyconitrileglucosides* se rangent :

1° L'*Amygdonitrileglucoside*, qui a été isolé du *Prunus Padus* L. par HÉRISSEY (‡), et du *Pr. virginiana* L. (*Pr. serotina* Poir.) par POWER et MOORE (¶).

Ce glucoside fond à 147-149°;  $\alpha_D = -26^{\circ}9$ . Sa formule est C<sup>14</sup>H<sup>17</sup>AzO<sup>6</sup>.

1. JORISSEN et HAIRS : La Linamarine, nouveau glucoside fournissant de l'acide cyanhydrique par dédoublement et retiré du *Linum usitatissimum* L. *Bull. Ac. roy. Belg.* (3 s.), **21**, 529, 1891.

2. DUNSTAN (W.-R.) et HENRY (T.-A.) : On Phaseolunatin, the cyanogenetic glucoside of *Phaseolus lunatus* L. *Proceed. of the roy. Soc. of London*, **72**, 285-294, 1903.

3. HÉRISSEY (H.) : Présence de l'Amygdonitrileglucoside dans le *Cerasus Padus* Delarb. *Journ. de Pharm. et Chim.* (6 s.), **26**, 194, 1907.

4. F. B. POWER et C. W. MOORE : The Constituents of the Bark of *Prunus serotina*. *Journ. of the Chem. Soc.*, **95** (1), 243-261, 1909.

Il se dédouble en donnant du *Glucose*, de l'*acide Cyanhydrique* et de l'*aldéhyde Benzoïque*.

Par action de l'*acide chlorhydrique* concentré, il donne du *Glucose*, de l'*Ammoniaque* et de l'*acide Phénylglycolique gauche*;

2° La *Sambunigrine* a été isolée du *Sambucus nigra* L. par BOURQUELOT et DANJOU (1). C'est un isomère du précédent. P<sup>t</sup> fusion 151-152°;  $\alpha_D = -76.3$ . Elle est très soluble dans l'eau, l'alcool froid, assez soluble dans l'éther acétique saturé d'eau.

Elle donne les mêmes produits que l'*amygdonitrileglucoside* par dédoublement en présence des ferments ou des acides faibles; mais, par action de l'*acide chlorhydrique* concentré, elle donne du *Glucose*, de l'*Ammoniaque* et de l'*acide Phénylglycolique droit*;

3° La *Prulaurasine*, isolée du Laurier-cerise (*Prunus Laurocerasus* L.) par HÉRISSEY (2). Corps cristallisé en petits prismes. P<sup>t</sup> fusion 120-122°;  $\alpha_D = -52.7$ . Isomère des corps précédents et donnant les mêmes produits par dédoublement biologique et en présence des acides faibles. Sous l'action de l'*acide chlorhydrique* concentré, il donne du *Glucose*, de l'*Ammoniaque*, et de l'*acide Phénylglycolique inactif*;

4° La *Dhurrine*; DUNSTAN et HENRY (3) ont retiré ce glucoside du *Sorghum vulgare* L. Il cristallise en petits prismes rectangulaires. Il est soluble dans l'alcool bouillant, l'eau bouillante, l'éther acétique bouillant. Sa formule est C<sup>14</sup>H<sup>17</sup>AzO<sup>7</sup>.

Sous l'action des acides, il se dédouble en *Glucose*, *acide Cyanhydrique* et *aldéhyde Paraoxybenzoïque*.

Parmi les phénylglycolnitrilebiosides, on connaît :

1° L'*Amygdaline-1*, découverte par ROBIQUET et BOUTRON (4). Ce corps est peu soluble dans l'alcool froid, insoluble dans l'éther, soluble dans l'alcool bouillant, l'eau froide (1/12). P<sup>t</sup> fusion 200°,  $\alpha_D = -39.7$ .

Dans son dédoublement par les acides ou l'*émulsine*, il se forme deux molécules de *Glucose*, de l'*acide Cyanhydrique* et de l'*aldéhyde Benzoïque*.

L'*invertine* (5) de la Levure de bière dédouble ce glucoside en donnant du *Glucose* et de l'*Amygdonitrileglucoside*.

1. BOURQUELOT (Em.) et DANJOU (Em.) : Sur la *Sambunigrine*, glucoside cyanhydrique nouveau, retiré des feuilles du Sureau noir. *Journ. Pharm. et Chim.* (5 s.), 22, 385, 1905.

2. HÉRISSEY (H.) : Sur la « Prulaurasine », glucoside cyanhydrique cristallisé retiré des feuilles de Laurier-cerise. *Journ. Pharm. et Chim.* (6 s.), 23, 5-14, 1906.

3. DUNSTAN (W.-R.) et HENRY (T.-A.) : The great millet, *Sorghum vulgare*. *Philos. Transact. of the roy. Soc. of London* (sér. A), 199, 399-410, 1902.

4. ROBIQUET (A.) et BOUTRON-CHARLARD (A.-J.) : Nouvelles expériences sur les amandes amères et sur l'huile volatile qu'elles fournissent. *Ann. Chim. et Phys.*, 44, 352, 1830.

5. Sous le nom d'*invertine* nous désignons la poudre de Levure de bière tuée par l'alcool.

Sous l'action de l'acide chlorhydrique concentré, il donne du *Glucose*, de l'*Ammoniaque* et de l'*acide Phénylglycolique gauche* avec formation transitoire d'*acide Amygdalique*.

Comme constitution, ce bioside correspondrait donc à l'amydonitrile-glucoside;

2° L'*Isoamygdaline* correspondrait à la *Prulaurasine*; ce glucoside n'a pas été signalé dans les végétaux et s'obtient par racémisation de l'amygdaline par l'eau de baryte.

Enfin à la *Sambunigrine* correspond un bioside, l'*Amygdaline-d*, obtenue récemment par KRIEBLE par racémisation de l'amygdaline-l.

3° La *Vicianine*, retirée par G. BERTRAND (1) des graines de *Vicia angustifolia* L. Elle cristallise en belles aiguilles incolores. P<sup>t</sup> fusion 160°. Très soluble dans l'eau chaude, difficilement dans l'eau froide, beaucoup moins dans l'alcool, insoluble dans l'éther de pétrole, la benzine, le chloroforme,  $\alpha_D = -20^{\circ}7$ . Sa formule est  $C^{10}H^{22}AzO^{12}H^2O$ .

Par hydrolyse fermentaire, elle donne du *Vicianose*, de l'*acide Cyanhydrique* et de l'*aldéhyde Benzoïque*. Ce vicianose est un biose constitué par du *Glucose* et de l'*Arabinose-l*. L'action des acides sur la vicianine donnera donc directement ces deux sucres. Par action de l'acide chlorhydrique concentré, elle donne de l'*Ammoniaque*, des *sucres*, et de l'*acide Phénylglycolique gauche*.

Dans le groupe des glucosides ne donnant ni acétone, ni aldéhyde benzoïque ou paraxaoxybenzoïque par dédoublement, on trouve :

1° La *Lotusine* de DUNSTAN et HENRY (2) isolée du *Lotus arabicus* L.  $C^{22}H^{34}AzO^{16}$ . Elle se dédouble en donnant de l'*acide Cyanhydrique*, deux molécules de *Glucose* et de la *Lotoflavine*;

2° La *Gynocardine* isolée par POWER et GORNALL (3) du *Gynocardia odorata* R. Br. se dédouble en *acide Cyanhydrique*, *Glucose* et en *trihydroxyaldéhyde* (ou *trihydroxyénone*);

3° La *Corynocarpine* retirée du *Corynocarpus laevigata* Forst. par SKEY. Ce glucoside est encore bien peu connu.

**Caractères microchimiques.** — On ne connaît guère de réactions colorées de ces glucosides pouvant être utilisées en microchimie végétale.

Cependant, la *réaction du bleu de Prusse*, que l'on obtient après dédoublement du glucoside dans la cellule par le ferment existant dans la

1. G. BERTRAND : La Vicianine, nouveau glucoside cyanhydrique contenu dans les graines de Vesce. *C. R. Ac. Sc.*, **143**, 832, 1906; *Bull. Sc. Pharm.*, **14**, 65, 1907.

2. DUNSTAN (W.-R.) et HENRY (T.-A.) : The nature and origine of the poison of *Lotus arabicus*. *Philos. Transact. of the roy. Soc. of London* (sér. B.), **194**, 515, 1901.

3. POWER (F.-B.) et GORNALL (F.-H.) : The constituents of Chaulmoogra seeds. *Journ. of the Chem. Soc.*, **85**, 838-851, 1904.

plante, peut servir, comme nous allons le voir, à caractériser ces composés cyanogénétiques.

**Méthodes de localisation.** — La méthode de localisation des glucosides à acide cyanhydrique a été indiquée par TREUB, lors de ses recherches sur la localisation, le transport et le rôle de l'acide cyanhydrique dans le *Pangium edule* Reinw.

Mais, dans cette plante, l'acide cyanhydrique existe, d'après GRESHOFF, sinon à « l'état libre, tout au plus uni à une autre substance d'une manière fort instable ». On comprend alors que la réaction du bleu de Prusse puisse se faire dans les préparations microscopiques sans traitement préalable. Il n'en est pas de même pour les végétaux renfermant des glucosides cyanogénétiques et il faudra dans ce cas avoir recours à un artifice détourné.

Les réactifs nécessaires pour effectuer la réaction du bleu de Prusse sont les suivants :

a) Une solution de potasse caustique. — On fait une solution aqueuse à 20 p. 100 de potasse, on en prend 20 centimètres cubes et on y ajoute 80 centimètres cubes d'alcool à 90 degrés.

b) Une solution ferroso-ferrique. — Solution à 2,5 p. 100 de sulfate ferreux à laquelle on ajoute 1 p. 100 de chlorure ferrique.

c) Une solution chlorhydrique. — Solution aqueuse à 20 p. 100.

Les préparations ne sont laissées qu'un instant dans la solution de potasse, on les retire et on les plonge dans la solution ferroso-ferrique portée à 50-60°. Il faut les y laisser pendant cinq minutes; on peut même les y laisser un quart d'heure sans inconvénient, mais, en tout cas, jamais moins de deux minutes.

Au sortir de ce réactif, les coupes sont laissées cinq minutes exactement dans la solution chlorhydrique.

Telle est la technique suivie par TREUB pour le *Pangium edule*.

Pour étudier la répartition de l'acide cyanhydrique dans le limbe des feuilles de *Pangium*, ou encore pour la localisation et la répartition des glucosides à acide cyanhydrique dans les feuilles d'autres végétaux, TREUB<sup>(1)</sup> a imaginé une méthode ressemblant beaucoup à l'*Iod-Probe*, employée par SACHS pour l'étude de la distribution et des quantités approximatives de l'amidon dans des feuilles entières.

Sa technique est la suivante : on frappe le limbe avec une brosse à cheveux, à petits coups secs, aussi également que possible, puis on procède sans tarder à l'immersion dans les divers bains de réactifs. Ces blessures mettant en contact ferment et glucoside, il se produit de l'acide cyanhydrique. Les nombreuses petites plaies, assez régulières-

1. TREUB : Sur la localisation, le rôle de l'acide cyanhydrique dans le *Pangium edule* Reinw.; *Ann. Jard. bot. Buitenzorg*, 13, 1-89, 1896.

ment distribuées sur toute la surface du limbe, font pénétrer partout les réactifs.

Le bleu de Prusse ne se forme qu'au pourtour des petites plaies et non dans tout le tissu; mais les réunions des petits centres bleus permettent, presque aussi bien que des teintes égales, d'établir les comparaisons nécessaires.

Il n'y a pas à craindre les causes d'erreur par transport de l'acide cyanhydrique par la brosse. Ce produit est très volatil et n'est pas entraîné dans les blessures successives. TREUB s'en est assuré en frappant des feuilles normales de *Pangium*, et frappant immédiatement après les parties blanches des feuilles panachées de la même espèce. Les grandes taches blanches ne renferment pas normalement d'acide cyanhydrique et, après contusion par la brosse, il n'y a pas la moindre réaction de bleu de Prusse; l'acide cyanhydrique n'est donc pas entraîné et la méthode « à la brosse » de TREUB peut être employée pour toutes les plantes à glucosides cyanogénétiques.

**L'acide cyanhydrique existe-t-il à l'état libre dans les végétaux à glucosides cyanogénétiques?** — Dans ses recherches sur le rôle de l'acide cyanhydrique dans les plantes vertes, TREUB admet que cet acide existe dans les plantes sous deux états : sous une forme peu stable, libre ou quasi libre, et sous une forme beaucoup plus stable, de nature glucosidique.

Cette assertion mériterait d'être vérifiée en ce qui concerne le *Pangium edule* Reinw., car pour les autres plantes, *Phaseolus*, *Passiflora*, etc., dans lesquelles TREUB (\*) avait tout d'abord admis l'existence de l'acide cyanhydrique sous ces deux formes, il semble bien démontré actuellement qu'il en est tout autrement.

La conclusion de TREUB reposait sur une expérience que nous savons aujourd'hui défectueuse. Le savant hollandais dosait l'acide cyanhydrique dans une feuille après contusion et macération. Il obtenait ainsi un chiffre qui représentait l'acide total existant dans la feuille. Puis il prenait un même poids de feuilles et, grâce à un dispositif particulier, il faisait agir sur ces feuilles de l'eau bouillante qui, selon lui, devait détruire le ferment et empêcher tout dédoublement ultérieur des glucosides. Par distillation, il obtenait une certaine quantité d'acide cyanhydrique correspondant à la forme peu stable, libre ou quasi libre. La différence représentait l'acide cyanhydrique de nature glucosidique.

TREUB (\*\*) n'avait pas suffisamment constaté que, bien que le dispositif adopté par lui porte rapidement les feuilles à la température de l'eau

1. TREUB : Nouvelles recherches sur le rôle de l'acide cyanhydrique dans les plantes vertes. *Ann. Jard. bot. Buitenzorg* (2 s.), 6, 79-106, 1907.

2. TREUB : 1904, *loc. cit.* et 1907, pl. I.

bouillante, il reste encore assez de temps aux enzymes pour opérer un dédoublement partiel des glucosides. L'acide cyanhydrique dosé et rapporté à une combinaison peu stable de cet acide ne provenait en réalité que de la quantité de glucoside qui avait pu s'hydrolyser. Après lecture d'un travail de GUIGNARD sur le *Sambucus nigra* L., l'auteur revient sur ses premières expériences et, employant l'alcool bouillant au lieu d'eau bouillante, il reconnaît que les quantités d'acide cyanhydrique existant sous la forme peu stable étaient beaucoup moins considérables qu'il ne l'avait primitivement admis.

Le tableau suivant permet de comparer les résultats de quelques distillations dans lesquelles des moitiés de mêmes feuilles furent traitées, les unes par l'eau bouillante, les autres par l'alcool absolu bouillant :

	HCAZ PAR DISTILLATION DIRECTE APRÈS ACTION DE :	
	Eau bouillante	Alcool absolu bouillant
<i>Lasia aculeata</i> Lour. . . . .	0,037	0,004
<i>Lasia spinosa</i> Thw. . . . .	0,043	0,010
<i>Manihot utilisissima</i> Pohl. . . . .	0,028	0,002
<i>Prunus javanica</i> Miq. . . . .	0,174	0,020
<i>Erythrospermum phytolaccoides</i> Gärtn. . . . .	0,158	0,010
<i>Hydnocarpus venenata</i> Gärtn. . . . .	0,060	0,006
<i>Pangium ceramense</i> Feys et Binn . . . . .	0,234	0,184

Une solution saline renfermant 30 p. 100 de sel marin agit dans le même sens que l'alcool absolu.

Les mêmes expériences reprises en grand sur l'*Indigofera galegoides* DC., le *Phaseolus lunatus* L. et le *Pangium edule* Reinw., lui donnèrent des résultats comparables. Citons quelques chiffres pris au hasard dans le tableau de TREUB :

	EAU bouillante	ALCOOL ABSOLU bouillant
<i>Phaseolus lunatus</i> L. . . . .	0,105	0,003
<i>Indigofera galegoides</i> DC. . . . .	0,024	0,005
<i>Pangium edule</i> Reinw . . . . .	0,144	0,08

Ainsi donc, la quantité d'HCAz libre ou sous la forme peu stable, qui était de 0,105 p. 100 dans le *Phaseolus* lorsqu'on employait l'eau bouillante, n'était plus que de 0,003 si l'on avait recours à l'alcool bouillant. On constate une différence semblable pour l'*Indigofera* et le *Pangium*; toutefois, pour ce dernier, la proportion d'acide obtenu était encore fort appréciable et TREUB ne s'explique cette teneur en acide cyanhydrique facilement libérable que par la présence de composés cyanhydriques moins stables que les glucosides (ou bien d'acide cyanhydrique libre).

Les conclusions de TREUB sont certainement entachées d'erreur; il est certain que la faible proportion d'acide prussique retiré des plantes par distillation directe après action de l'alcool absolu bouillant, provient de la décomposition rapide des glucosides cyanhydriques.

GUIGNARD (1), dans ses recherches sur le Sureau, n'a pas trouvé d'acide libre dans cette plante et les expériences de RAVENNA et TONEGUTTI (2) sont en complète contradiction avec celles de TREUB.

En mélangeant 0,50 d'amygdaline et 0,10 d'émulsine bien desséchées, répartissant ce mélange dans de petites enveloppes de papier mince, et traitant ces enveloppes par la méthode de TREUB, les auteurs obtiennent de petites quantités d'acide cyanhydrique. L'eau bouillante n'aurait donc pas empêché la décomposition partielle de l'amygdaline par l'émulsine.

D'autre part, en versant de l'eau bouillante sur des feuilles de Laurier-cerise, ou en plongeant les feuilles dans l'eau maintenue à l'ébullition, on obtient des résultats différents. (TREUB avait déjà constaté le même fait en opérant avec le *Prunus javanica* Miq.) Il faudrait donc admettre que les feuilles jetées dans l'eau bouillante ne renferment pas la même quantité d'acide cyanhydrique libre que les feuilles sur lesquelles l'eau bouillante avait été répandue. Ces dernières seraient plus riches en acide cyanhydrique libre. Il est plus rationnel de supposer que le dédoublement des glucosides a pu se faire plus facilement dans ce dernier cas.

Enfin, l'expérience suivante réfute complètement l'hypothèse de TREUB. RAVENNA et TONEGUTTI plongent une à une des feuilles de Laurier-cerise, entières, dans une solution de potasse caustique très diluée et maintenue à l'ébullition. Les feuilles étaient ainsi portées à une température voisine de 100 degrés, et la température du liquide n'était pas abaissée par l'introduction d'une trop grande quantité de substances. Le liquide était ensuite additionné d'acide tartrique, et on le soumettait à la distillation dans un courant de vapeur d'eau. Le distillat, dans toutes les expériences de RAVENNA et TONEGUTTI, n'a jamais donné la réaction du bleu de Prusse.

La notion de l'acide cyanhydrique libre ou sous une forme peu stable se trouve donc considérablement battue en brèche. Il est même étonnant que la conviction de TREUB n'ait pas été ébranlée par les résultats si différents qu'il obtenait dans ses expériences comparatives, dans la distillation directe après action de l'alcool ou de l'eau bouillante. Les faibles quantités d'acide cyanhydrique obtenues après traitement à l'alcool auraient dû le mettre en garde et le rendre circonspect, d'autant

1. GUIGNARD: Sur l'existence dans le Sureau noir d'un composé fournissant de l'acide cyanhydrique. *C. R. Ac. Sc.*, **141**, 16, 1905; et *Bull. Sc. Pharm.*, **12**, 63, 1905.

2. RAVENNA et TONEGUTTI: Alcune osservazioni sulla presenza dell'acido cianidrico libero nelle piante. *Rendiconti d. r. Acc. dei Lincei*, **49** (2), 19-25, 1910.

plus que, dans la plupart des cas, pour introduire ces feuilles dans le flacon d'Erlenmeyer, avant d'y faire arriver l'alcool, il était obligé de les froisser et même parfois de les réduire en fragments. La faible quantité d'HCAz trouvée pouvait très bien provenir de cette manipulation. En tout cas, on ne peut admettre que des lots de feuilles, traitées par l'alcool bouillant, renferment beaucoup moins d'acide cyanhydrique à l'état libre que des feuilles semblables traitées par l'eau bouillante. L'exemple du *Pangium edule*, sur lequel TREUB s'appuie en dernier ressort pour maintenir ses premières conclusions, n'est pas encore suffisamment probant, et il serait désirable que des recherches sur ce végétal fussent reprises dans le but de déterminer si, vraiment, il existe de l'acide cyanhydrique libre dans les plantes.

La précision de ce fait serait du plus grand intérêt au point de vue phytophysiologique, car sa connaissance résoudrait, en partie, le problème de la formation et du rôle des glucosides cyanogénétiques. Si cet acide existe réellement à l'état libre — ce dont nous doutons — il y aura encore à rechercher si ce produit ne représente pas un état transitoire, dû à l'hydrolyse des glucosides cyanogénétiques, en vue de la construction d'autres matériaux. L'acide cyanhydrique ne serait donc plus comme le voudrait TREUB « le premier produit reconnaissable de l'assimilation de l'azote, sinon le premier composé organique formé ».

En tout cas, des recherches nombreuses et répétées sur tous les végétaux à glucosides cyanhydriques, sont encore nécessaires. En combinant la méthode biochimique, qui nous permettrait de doser dans le végétal le glucoside et, par suite, la quantité d'acide cyanhydrique qui en dérive, avec le dosage direct de l'acide cyanhydrique, peut-être arriverait-on à un résultat satisfaisant.

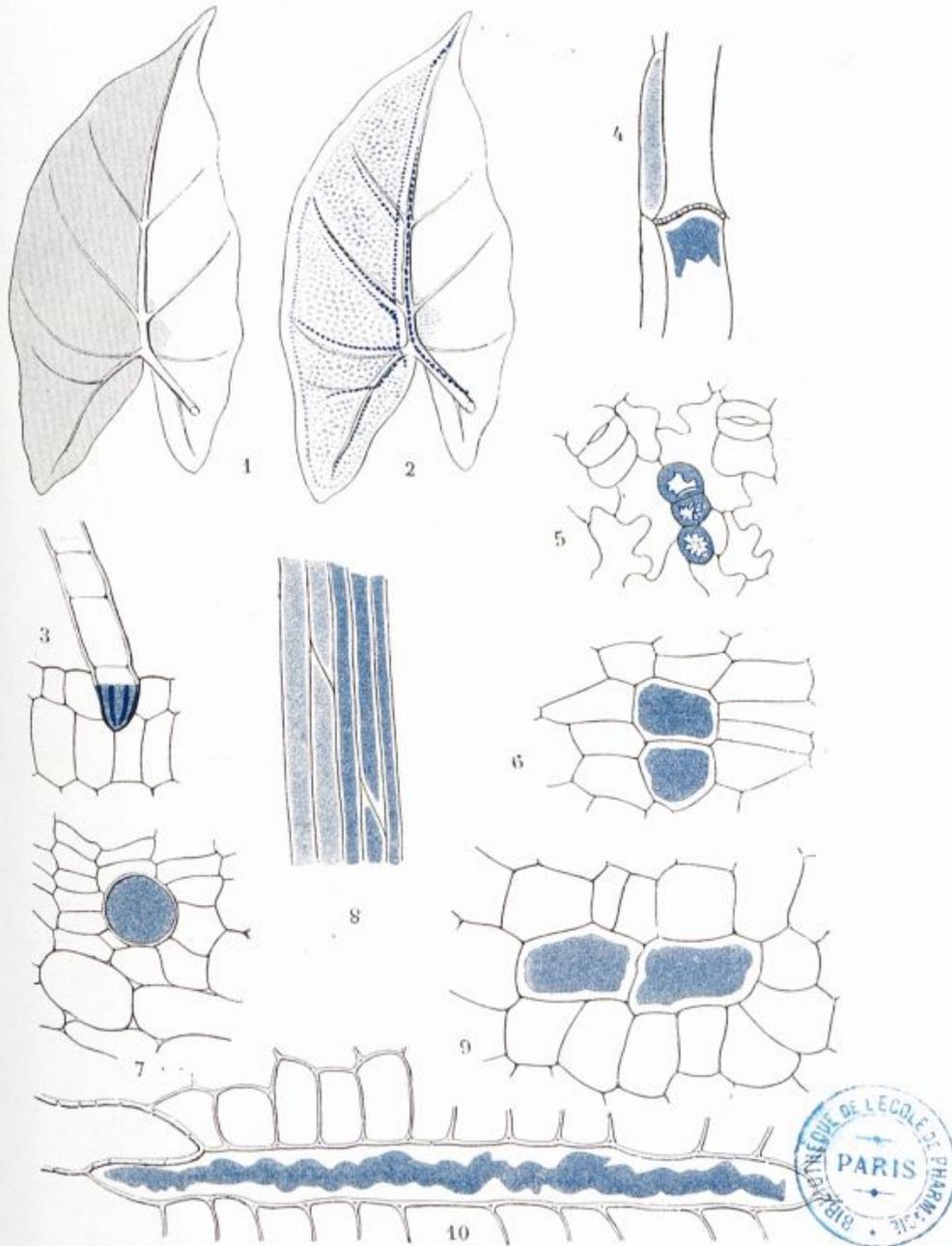
**Répartition du glucoside cyanogénétique dans le *Pangium edule* Reinw.** — Nous pouvons maintenant donner la répartition de l'acide cyanhydrique dans le *Pangium edule* Reinw., telle que l'a indiquée TREUB, avec toutefois cette restriction que, lorsque l'auteur a en vue la présence de l'acide cyanhydrique libre, c'est très probablement « glucoside cyanhydrique » qu'il nous faut comprendre.

La réaction du bleu de Prusse dans les organes du *Pangium* se fait dans les endroits suivants :

Dans la tige, le principe cyanhydrique se trouve surtout localisé dans le liber et les éléments du péricycle. Cette localisation se retrouve dans les axes épicotylé et hypocotylé, dans les pétioles et dans les grosses branches.

Les tubes criblés, les cellules annexes, l'endoderme, dans les tiges très riches en acide cyanhydrique, donnent une réaction très nette (Pl. XXX, 4).

Au voisinage du sommet végétatif, les éléments libériens, qui ne sont pas encore bien différenciés, ne contiennent que relativement peu d'acide



D'après M. TREUB.

BONARD, sc.

*Alocasia macrorhiza* Schott ; 1, 2, répartition du glucoside dans les feuilles panachées. *Pongium edule* Reinw. ; 3, poils tecteurs ; 4, tube criblé et cellule annexe ; 5, cellules épidermiques ; 6, 9, 10, cellules spéciales de la moelle ; 7, cellule spéciale du phelloderme ; 8, fibres péryciques.



cyanhydrique, mais on constate, vers la partie externe du jeune liber en voie de formation, de longues cellules remplies de cet acide et de matières albuminoïdes: ce sont les jeunes fibres péricycliques. Avec l'âge, la matière albuminoïde disparaît, et il ne reste plus que l'acide cyanhydrique. Dans les fibres à parois assez épaisses, on rencontre encore parfois de l'acide cyanhydrique; mais, le plus souvent, les fibres âgées et fortement sclérifiées ne donnent plus aucune réaction (Pl. XXX, 8).

Les rayons médullaires, riches en éléments à oxalate de chaux, ne renferment pas de principes cyaniques.

Dans la feuille, outre la localisation dans le péricycle et le liber, on trouve le produit cyanique dans toutes les cellules du parenchyme. Dans l'épiderme, il ne semble en exister que dans les cellules basilaires des poils. Les cellules à oxalate de calcium de l'épiderme ou de l'assise palissadique donnent également la réaction du bleu de Prusse, tandis que les éléments oxalifères situés à l'intérieur des tissus ne la donnent pas. Cellules basilaires des poils et cellules à oxalate ne renferment pas trace de matières albuminoïdes (Pl. XXX, 3, 5).

Enfin, il existe des *cellules spéciales*, réparties sans ordre dans le parenchyme cortical et le parenchyme médullaire de tous les tissus, ne se différenciant pas par leur forme des cellules environnantes, et qui renferment le principe cyanhydrique. Ces cellules sont surtout abondantes dans les organes en voie de croissance (jeunes plantes, jeunes graines) et dans les organes qui se préparent à un accroissement ultérieur (sommet des tiges à l'état de repos). Dans ces cellules, à côté du principe cyanhydrique, existe une matière albuminoïde, mais, au cours du développement, l'acide cyanhydrique disparaît de ces cellules, tandis que la matière albuminoïde y persiste encore un certain temps (Pl. XXX, 6, 7, 9, 10).

Les racines, les fleurs, les pédoncules floraux présentent une répartition analogue. Il en est de même des fruits.

Dans les graines, la réaction se fait surtout dans les cellules périphériques de l'albumen et dans celles qui touchent aux cotylédons.

Dans l'embryon, le principe cyanique n'existe que dans les cotylédons.

D'après TREUB, dans le *Pangium ceramense* Teysm. et Binn., l'*Hydnocarpus venenata* Gärtn., l'*H. alpina* Wight., le *Prunus javanica* Miq., et dans le *Prunus Laurocerasus* L. d'après A. J. VAN DEN VEN (1), l'acide cyanhydrique se trouverait surtout dans le liber. Dans le *Phaseolus lunatus* L., les *Passiflora*, le composé cyanogénétique existerait uniquement dans la feuille, il n'y en aurait ni dans le pétiole, ni dans la tige, ni dans la racine.

1. A. J. VAN DEN VEN : Over het cyaanwaterstofzuur bij de Prunaceæ. Dordrecht, 25, 1898.

Tandis que, dans la première série des végétaux cités, l'acide cyanhydrique, formé dans les parties vertes, descendrait des feuilles, circulerait dans les autres organes, comme le prouvent les expériences d'annélation sur le *Pangium*, il en serait tout autrement pour le *Phaseolus*, les *Passiflora*. Avant de quitter la feuille, l'acide cyanhydrique serait engagé dans une combinaison où sa présence ne se décèlerait plus, et se retrouverait dans la graine sous forme de phaséolunatine.

Nous reviendrons d'ailleurs sur tous ces faits, lorsque nous étudierons le mode de formation et le rôle des glucosides cyanogénétiques.

Dans notre planche, nous nous sommes borné à reproduire l'aspect des préparations que l'on obtient par la méthode de TREUB. Nous avons choisi à dessein des feuilles de *Phaseolus* traitées le matin et le soir et des feuilles panachées d'Aroïdées. L'aspect différent du précipité permet de se rendre compte de la variation dans la teneur en principe cyanhydrique.

K. PECHE<sup>(1)</sup> vient d'indiquer, pour la localisation de l'acide cyanhydrique dans le *Prunus Laurocerasus* L., une nouvelle méthode sur laquelle nous ferons toutes nos réserves.

Il emploie comme réactif une solution de nitrate de mercure à 3 p. 100 et traite les feuilles entières par le procédé à la brosse de TREUB ou, mieux encore, les coupes de tiges ou de feuilles directement par le réactif mercurique à froid. D'après lui, le nitrate mercurique est immédiatement réduit par l'acide cyanhydrique avec formation de mercure métallique. Les différents composés que l'on trouve dans les végétaux, acides aminés, dérivés phénoliques, acides, tanins, se comporteraient très différemment. Ils réduiraient bien le nitrate de mercure, mais plus lentement, et il n'y aurait que très difficilement formation de mercure métallique. Il cite, à titre d'exemple, les cellules à tanin d'*Echeveria*, de *Sambucus* et de *Prunus Padus* L., qui donnent des précipités jaune brun; la pulpe d'amandes amères, au contraire, devient noire immédiatement tandis que celle d'amandes douces ne donne qu'à la longue une coloration gris très clair.

Dans la tige du *Prunus Laurocerasus* L., l'acide cyanhydrique se trouverait dans l'épiderme, le périderme, le liber. Les rayons médullaires libériens seraient plus riches en principe cyanhydrique que ceux du bois. Dans la moelle et l'écorce, il existerait des « cellules spéciales » analogues à celles du *Pangium*.

Dans la feuille, l'acide cyanhydrique se trouverait surtout dans l'épiderme inférieur et il n'y en aurait que très peu dans l'épiderme supé-

1. K. PECHE. Mikrochemischer Nachweis der Cyanwasserstoffsäure in *Prunus Laurocerasus* L. *Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss. Wien, math. naturw. Kl. Abt. I.* 121, 33-56, 1 pl. col., 1912.

rieur. La teneur en acide cyanhydrique du tissu palissadique serait très variable, le parenchyme lacuneux, le liber des faisceaux et les rayons médullaires donneraient au contraire une réaction intense.

La localisation du tanin du *Prunus Laurocerasus* L. serait identique à celle de l'acide cyanhydrique.

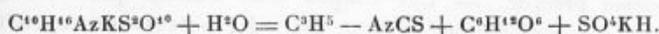
L'acide cyanhydrique prendrait naissance dans les grains de chlorophylle du tissu palissadique et formerait une combinaison labile avec le tanin de ces mêmes cellules. Cette combinaison peu stable donnerait le glucoside cyanogénétique ou se transformerait en matière albuminoïde de réserve. Toutefois, l'intensité des réactions microchimiques semblerait prouver que la combinaison labile, tannique, peut elle-même se transporter dans ces différents tissus. La réaction microchimique ne se produit qu'avec ce composé cyanhydrique instable.

La lumière intervient dans la formation de l'acide cyanhydrique, car, après une journée très ensoleillée, les cellules palissadiques donnent une réaction intense; si on met ensuite la plante à l'obscurité, l'acide cyanhydrique disparaît en premier lieu des cellules palissadiques, puis du parenchyme, et finalement du liber.

### GLUCOSIDES A SENÉVOLS

#### Myronate de potasse (Sinigrine.)

L'acide Myronique est un glucoside acide, à la fois azoté et sulfuré, qui existe sous forme de sel de potassium dans les Crucifères. Ce Myronate de potasse est soluble dans l'eau, peu soluble dans l'alcool, insoluble dans l'éther. Il se dédouble sous l'action d'un ferment, la Myrosine, en Glucose, Isosulfocyanate d'Allyle et Bisulfate de potassium.



GUIGNARD (1), dans son travail sur la localisation des principes actifs des Crucifères, a étudié la localisation du myronate de potasse dans un grand nombre de plantes de cette famille. Ne pouvant déceler la présence du glucoside par les réactifs colorants, il a employé deux méthodes indirectes.

**Méthodes de localisation.** — La première consiste à déterminer le dédoublement du myronate dans les cellules mêmes où il existe et à mettre en évidence, par un réactif approprié, la formation de l'essence de moutarde.

1. L. GUIGNARD : Sur la localisation des principes actifs des Crucifères. *Journ. de Bot.*, 4, 385-394, 412-430, 435-455. 1890.

Le second, moins précis, est fondé sur la propriété que possède le myronate de céder, en présence de l'alcool, sa potasse à l'acide tartrique, sous forme de bitartrate de potasse insoluble et cristallisable.

On opère de la façon suivante :

*Premier procédé.* — On laisse la partie de l'organe à étudier sécher lentement et incomplètement à l'air libre, jusqu'à ce que la section ne détermine plus, à la faveur de l'eau de végétation, le contact du ferment et du glucoside. Les coupes, faites au microtome afin d'obtenir partout la même épaisseur, doivent comprendre une ou deux assises de cellules intactes. Elles sont transportées dans l'éther pur anhydre<sup>(1)</sup> qui ne dissout pas le glucoside et enlève toutes les matières grasses. Avant de continuer, on s'assure, par l'orcanette acétique, que toute la matière grasse a été enlevée.

Les coupes sont alors placées dans une solution de myrosine à l'étuve à 50° et abandonnées pendant vingt-cinq à trente minutes.

On lave ensuite à l'eau et on traite par l'orcanette acétique. Les cellules qui contenaient du myronate de potasse renferment de l'essence de moutarde colorée par l'orcanette. En traitant à nouveau les préparations par l'éther anhydre, l'examen microchimique permet alors de constater que les globules d'essence ont complètement disparu; on n'aperçoit plus que le protoplasme légèrement teinté de rose pâle avec son noyau plus coloré, facile à distinguer des globules huileux.

Il n'est donc pas douteux que les gouttelettes colorées étaient bien de l'essence de moutarde.

Les grains d'amidon ne gênent pas la réaction.

Cette expérience est délicate et demande de nombreux tâtonnements avant d'arriver à un résultat satisfaisant.

*Deuxième procédé.* — Les coupes sont traitées par une solution alcoolique d'acide tartrique à 5 p. 100. La potasse du myronate est précipitée sous forme de cristaux tétraédriques, rarement prismatiques, de bitartrate. Ces cristaux sont libres ou groupés de différentes façons. Mais comme les plantes renferment des sels de potassium, calcium, magnésium, également précipitables par l'acide tartrique en présence d'alcool, il est indispensable de s'assurer que le précipité obtenu est bien dû au glucoside. On enlève alors le myronate de potasse par de l'alcool à 90°, qui ne dissout pas les sels minéraux de potassium, calcium, etc. Ces coupes, ainsi débarrassées du glucoside, sont à nouveau traitées par l'alcool tartrique. En comparant ainsi les préparations faites avant et après action dissolvante de l'alcool à 90°, on peut juger de la répartition du myronate de potasse.

1. Et non dans l'alcool, suivant le reproche que PECHE adresse à GUIGNARD.

K. PECHE (1) croit que les résultats obtenus par ces procédés ne sont pas très convaincants. Il préconise une méthode de localisation basée sur les propriétés réductrices de ces glucosides vis-à-vis de l'acide osmique, le permanganate de potassium, l'azotate d'argent ammoniacal. L'auteur reconnaît lui-même que les résultats ne sont pas décisifs. La réduction des sels précédents produit bien une coloration dans certaines cellules, mais rien ne permet d'imputer cette réaction à la sinigrine.

Ce n'est, selon PECHE, qu'une « conclusion vraisemblable » que l'on peut admettre provisoirement. Certes, ce n'était pas la peine de douter de l'exactitude des recherches de GUIGNARD, pour arriver à un semblable résultat.

**Répartition du glucoside.** — GUIGNARD a pu, de cette façon, montrer que toutes les cellules parenchymateuses de l'écorce, du bois, et de la moelle du Raifort (*Cochlearia Armoracia* L.) contiennent du myronate de potassium.

S'appuyant sur ces expériences de localisation, PECHE prétend que ce ne sont pas « toutes les cellules parenchymateuses qui renferment le glucoside, mais simplement un certain nombre de ces éléments bien différenciés (idioblastes). »

Dans la graine de moutarde noire (*Brassica nigra* Koch), tous les éléments du parenchyme des cotylédons et de la radicule, y compris l'épiderme, contiennent le sel glucosidique.

Le ferment qui dédouble les glucosides des Crucifères se localise très facilement par une méthode également indiquée par GUIGNARD. Ce savant avait tout d'abord employé l'acide chlorhydrique additionné d'orcine, qui communique aux cellules à myrosine une coloration violette, mais il abandonna rapidement ce réactif pour la solution d'azotates mercureux et mercurique (Réactif de MILLON).

Les coupes sont disposées dans un verre de montre avec du réactif de MILLON. On chauffe très légèrement, jusqu'à ce que les préparations prennent une teinte rose violacé uniforme. On les retire alors, on les monte en glycérine. Les cellules à myrosine sont colorées en un rouge rosé particulier et très facile à distinguer de la teinte prise par le protoplasme des cellules dépourvues de ce ferment.

Ce procédé de localisation de la myrosine ne convient pas à PECHE qui préconise le suivant. Les coupes sont placées dans une solution de myronate de potassium à 10 p. 100 saturée de chlorure de baryum, de strontium ou de calcium.

Le dédoublement du myronate ainsi ajouté, se produit dans les

1. K. PECHE. Mikrochemischer Nachweis des Myrosins. *Sitzungsb. d. K. Akad. Wiss. Wien, math. naturw. Kl. Abt. I*, 122, 458-462, 1913.

cellules à myrosine, et le bisulfate de potassium provenant de la réaction donne, avec le chlorure employé, un précipité granuleux de sulfate qui se localise dans les cellules à myrosine. La même expérience faite avec une solution de myronate de potassium sans addition de chlorure alcalino-terreux, ne donne pas lieu à la formation de ce précipité.

Dans la racine de Raifort, ces cellules à myrosine existent dans tous les parenchymes : cortical, libérien, ligneux.

Dans les feuilles, on les trouve dans tous les parenchymes et parfois dans le péricycle.

Dans la graine, elles se localisent dans les téguments, l'albumen, les cotylédons.

Leur répartition varie avec les genres et les espèces. Il n'y a jamais de glucoside dans les cellules à myrosine.

### C. — Saponines.

Sous le nom de *Saponines* et de *Saponoïdes* (<sup>1</sup>), on désigne un certain nombre de corps possédant des propriétés physiques communes, mais dont la nature chimique est loin d'être complètement connue.

Leur caractère commun est de former avec l'eau des dissolutions moussant abondamment, maintenant en suspension les poussières fines ou les liquides émulsionnés, en un mot possédant des propriétés émulsives et aphrogènes.

Elles sont hémolytiques, c'est-à-dire qu'elles dissolvent les globules du sang. Elles sont amorphes, possèdent le plus souvent un pouvoir rotatoire. Par hydrolyse avec les acides, elles donnent des corps réducteurs fournissant des osazones; aussi les range-t-on parmi les glucosides ou, tout au moins, à la suite des glucosides.

Les saponines sont solubles dans l'eau, insolubles dans l'alcool fort et dans l'éther, solubles dans l'éther acétique; les saponoïdes, insolubles dans l'eau et dans l'éther, sont solubles dans l'alcool fort, mais donnent des sels alcalins qui, eux, sont au contraire solubles dans l'eau et insolubles dans l'alcool.

Saponines et saponoïdes donnent avec les métaux et les alcalino-terreux des sels insolubles peu étudiés.

**Caractères microchimiques.** — L'étude microchimique des Saponines a fait l'objet d'un certain nombre de recherches de la part de

1. MASSON : Recherches sur quelques plantes à saponine. *Th. Doct., Un. Pharm.*, Paris, 1910.

ROSOLL <sup>(1)</sup>, KOBERT <sup>(2)</sup>, HANAUSECK <sup>(3)</sup>, HOFFMANN <sup>(4)</sup>, BEULAYGUE <sup>(5)</sup>, COMBES <sup>(6)</sup>, et M<sup>me</sup> DUCHER <sup>(7)</sup>.

Les réactions employées pour cette recherche sont des réactions colorées.

1° L'acide sulfurique concentré communique aux cellules contenant la saponine une coloration jaune, devenant rouge, puis bleu violet au bout de dix à quinze minutes (ROSOLL).

2° Un mélange d'acide sulfurique et d'alcool à parties égales donne les mêmes réactions (KOBERT).

3° L'acide sulfurique et le sucre donnent une coloration violette.

4° L'acide sulfurique additionné d'acide sélénieux donne une coloration rouge cerise intense (MECKE).

5° Le réactif de MILLON colore les cellules à saponine en rouge intense (HOFFMANN).

6° L'acide sulfurique et l'alcool à parties égales, additionnés de perchlorure de fer donnent un précipité bleu brunâtre (HANAUSECK).

7° Le sous-acétate de plomb précipite abondamment toutes les saponines (BUSSY).

8° L'acétate neutre de plomb ne précipite que les saponines acides sous forme d'un précipité gélatineux (ROCHELEDER et SCHWARTZ).

9° L'acide sulfurique additionné de bichromate de potassium donne une coloration vert sale (KOEHLER).

10° Le ferrocyanure de potassium et le sulfocyanure de potassium donnent un précipité blanchâtre floconneux.

11° Le nitrate d'argent donne un précipité qui est lentement réduit à l'ébullition.

**Méthodes de localisation.** — Pour la localisation des saponines, presque tous les auteurs précédents ont eu recours aux réactions colorées. Les résultats obtenus ne sont pas très satisfaisants et M<sup>me</sup> DUCHER

1. ROSOLL : Ueber den mikrochem. Nachweis der Glycoside und Alkaloide in den veget. Geweben, 25. Jahresb der niederösterreich. Landes-Realgymnasium zu Stockerau, Stockerau, 25, 1889-1890.

2. KOBERT : Beiträge zur Kenntniss der Saponin Substanz. Arch. f. exp. Pathol., 23, 233, 1887.

3. HANAUSECK : Ueber den Sitz der Saponin Substanz in den Kornradesamen. Chem. Zeit., 16, 1643, 1892.

4. HOFFMANN : Ueber die Quillajasäure. Ber. chem. Gesell., 36, 2722, 1903.

5. BEULAYGUE : Du *Sapindus utilis* et des différentes saponines. Th. Pharm., Montpellier, 1896.

6. R. COMBES : Etude botanique des plantes à saponine. (Manuscrit pour le prix MENIER, déposé à la Bibliothèque de l'Ecole de pharmacie de Paris), 1906.

R. COMBES : Sur une méthode générale de recherches microchimiques et son application à l'étude de la répartition des saponines chez les végétaux. C. R. Ac. Sc., 145, 1431, 1907.

7. M<sup>me</sup> DUCHER : Etude botanique des plantes à saponine. (Manuscrit pour le prix MENIER, déposé à la Bibliothèque de l'Ecole de pharmacie de Paris), 1906.

a pu dire, après avoir essayé un certain nombre de localisations, que tous les résultats obtenus n'étaient pas très nets et que les réactions colorées permettaient simplement de caractériser ces corps, mais non de les localiser dans les cellules qui les renferment.

COMBES a critiqué toutes ces réactions colorées et a essayé d'obtenir une méthode générale de localisation des saponines par précipitation de ces substances dans les cellules, au moyen de solutions de sels métalliques ou alcalino-terreux.

Un premier essai, relaté dans un manuscrit déposé à l'École de pharmacie de Paris, ne lui a pas donné de résultats satisfaisants. L'auteur le reconnaît très franchement et il donna l'année suivante une nouvelle méthode générale qui est incontestablement plus rationnelle.

Dans son premier procédé, l'auteur traite les coupes par l'acétate de plomb pendant vingt-quatre heures. Au bout de ce temps, il lave les coupes à l'eau, à l'alcool, à l'éther, au chloroforme, et il fait ensuite réagir sur ces coupes l'acide sulfurique, qui décompose le sel plombique de la saponine, et donne la coloration caractéristique de ce corps.

L'auteur fait remarquer que le lavage enlève glucosides, alcaloïdes et les autres corps, sauf les tanins, qui donnent aussi des sels métalliques ou alcalino-terreux insolubles ; il recommande donc de faire parallèlement une localisation des tanins dans la plante étudiée. Un examen comparatif des coupes suffirait, selon lui, à déterminer les éléments cellulaires renfermant la saponine.

Si COMBES, avec juste raison, fait remarquer que les tanins sont précipités par l'acétate de plomb, c'est un peu s'avancer que de prétendre que le lavage à l'eau, à l'alcool, l'éther et le chloroforme enlèvera les glucosides, alcaloïdes, etc. La plupart de ces substances, et en particulier les alcaloïdes, sont précipitées par l'acétate de plomb, ou existent dans les végétaux sous forme de combinaisons qui ne sont aucunement solubles dans les solvants employés.

La seconde méthode générale, indiquée par COMBES, est basée sur un principe analogue : on cherche encore à obtenir un précipité dans les cellules, mais, cette fois, au lieu d'acétate de plomb, on emploie l'eau de baryte.

Les coupes sont laissées vingt-quatre heures dans l'eau de baryte. Il se fait un composé barytique. On lave les coupes à l'eau de chaux pour enlever l'excès de baryte (le sel barytique de la saponine est soluble dans l'eau), et on traite alors les préparations par une solution de bichromate de potassium à 10 p. 100. Il se forme dans les cellules un précipité de chromate de baryte insoluble. Les cellules à saponine ont une teinte jaune citron qui les différencie des cellules à tanin qui renferment un précipité rouge brunâtre.

Comme expérience de contrôle, l'auteur recommande de faire la réac-

tion au bichromate de potasse sur des coupes débarrassées du composé barytique par lavage à l'eau. Il serait peut-être préférable, à notre avis, d'essayer sur ces préparations l'action des réactifs sulfuriques de façon à obtenir une réaction colorée.

CONRAD (1) trouve que le précipité de chromate de baryum, de couleur très pâle, laisse quelques imprécisions dans la localisation. Il met alors ce précipité en évidence par un traitement avec une solution de nitrate d'argent au 1/200. Le chromate d'argent se substitue au chromate de baryum. La teinte rouge brique de ce précipité rend très nette la localisation de la saponine.

L'auteur emploie aussi une méthode de surcoloration au bleu polychrome de UNNA. Les parois cellulaires se colorent en bleu foncé, les albuminoïdes en jaune et les granules de saponine barytique, presque incolores, restent comprimés entre la masse protoplasmique et les cloisons des cellules.

L'idée de COMBES, de fixer ainsi la saponine dans les cellules à l'état de sel insoluble, est intéressante, et nul doute qu'en combinant ainsi l'action des méthodes de précipitation et de coloration, on ne puisse arriver à un résultat à peu près satisfaisant.

### Répartition des Saponines dans les végétaux.

#### *Smilax medica* Cham. et Schlecht.

D'après COMBES, les trois ou quatre assises situées sous « l'épibléma » se colorent en rouge après traitement à l'acétate de plomb. Ces cellules du parenchyme cortical sont assez reconnaissables, car elles ont leurs parois un peu épaissies, ne renferment pas d'amidon, contrairement aux cellules de la région interne du parenchyme cortical qui ont des parois minces et sont bourrées de grains d'amidon.

#### *Paris quadrifolia* L.

M<sup>me</sup> DUCHER dit que la saponine se trouve dans tout le parenchyme cortical, dans l'endoderme et le liber; l'épiderme n'en renfermerait pas. La réaction est assez nette avec les réactifs à base d'acide sulfurique (acide sulfurique et alcool, avec ou sans addition de perchlorure de fer, acide sulfurique et séléniate de soude). Malgré cela, l'auteur reconnaît qu'il s'agit plutôt d'une caractérisation que d'une localisation au sens vrai du mot.

1. L. CONRAD. Recherches botaniques et chimiques sur deux graines de la famille des Sapindacées (*Xanthoceras sorbifolia* Bunge et *Kalreuteria paniculata* Laxm). *Th. Doct. Un.*, Paris, 35-39, 1913.

*Yucca filamentosa* L.

La localisation de cette saponine a été faite par COMBES. La répartition de ce produit est la suivante :

*Rhizome.* — Dans le parenchyme cortical et le liber des faisceaux corticaux. L'écorce est séparée de la partie centrale par trois ou quatre assises de cellules allongées tangentiellement. Dans cette partie corticale, on trouve un très grand nombre de faisceaux libéro-ligneux et la saponine est, dans tout l'ensemble du tissu, uniquement située dans le liber des faisceaux.

*Racine.* — Dans tout le parenchyme cortical et rien dans le liber.

*Feuille.* — Exclusivement dans le liber des faisceaux.

*Chamaelirium luteum* A. Gray.

D'après M<sup>me</sup> DUCHER, on trouve, après action de l'acide sulfurique sélénieux, une coloration rose vif uniforme dans tous les tissus du rhizome étudié.

*Saponaria officinalis* L.

Pour les deux auteurs précédents la saponine est située :

*Racine.* — Dans les deux ou trois assises du phelloderme, dans les rayons médullaires et à la pointe des faisceaux du bois.

*Tige.* — Dans les tiges jeunes, la saponine se trouve dans les trois ou quatre assises sous-épidermiques. Dans la tige âgée, l'assise subéro-phellodermique prend naissance dans le péricycle et exfolie tout le tissu situé au-dessus, entraînant avec le rhytidome toute la saponine. En automne, la tige ne renferme donc plus ce principe.

*Gypsophila paniculata* L.

D'après COMBES, la saponine se trouve dans le phelloderme de la racine et de la tige. Dans ce dernier organe, la région à saponine est facile à reconnaître, car les cellules du parenchyme cortical qui donnent la réaction sont petites, serrées, avec très peu de méats intercellulaires, tandis que les cellules plus internes sont plus volumineuses, avec méats très développés.

*Herniaria glabra* L.

Pour COMBES, la saponine serait, dans la tige comme dans la racine, localisée dans le suber (?)

*Agrostemma Githago* L.

ROBERT localise la saponine dans le tégument de la graine et HANAUSECK dans l'embryon. M<sup>me</sup> DUCHER prétend n'avoir obtenu aucune réaction dans l'embryon.

*Polygala Senega* L.

M<sup>me</sup> DUCHER n'a pas trouvé de localisation bien nette dans cette plante.

*Sapindus utilis* Trab.

Pour BEULAYGUES et M<sup>me</sup> DUCHER, la localisation de la saponine est très facile à faire au moyen de l'acide sulfurique alcoolisé additionné de perchlorure de fer. La saponine se trouve exclusivement dans les grandes cellules de la région moyenne du mésocarpe. Les cellules de l'épicarpe et de l'endocarpe sont très petites, très serrées les unes contre les autres, aussi la région à saponine est-elle facile à déterminer.

*Æsculus Hippocastanum* L.

COMBES a montré que toutes les cellules du parenchyme cotylédonaire, renferment de la saponine. Les faisceaux libéro-ligneux qui le sillonnent ne donnent aucune réaction.

*Xanthoceras sorbifolia* Bunge.

CONRARD emploie la méthode générale qu'il a décrite et une méthode toute spéciale à cette graine. Il traite les coupes par une solution d'acide acétique à 10 p. 100 additionnée de tanin. Le saponide du *Xanthoceras* forme une combinaison insoluble avec le tanin. On met ce précipité en évidence soit par un traitement au perchlorure de fer, soit par une coloration au moyen des solutions aqueuses d'aniline (fuchsine, vert malachite, etc).

Le saponide se trouve répandu dans toutes les cellules du parenchyme cotylédonaire. Il existe également « dans la partie externe de la zone interne du tégument et dans les cellules profondes du tégument externe ».

*Kœlreuteria paniculata* Laxm.

D'après CONRARD, le saponide se trouve dans toutes les cellules du parenchyme cotylédonaire. Dans les téguments, il existerait « une combinaison saponido-tannique dans le parenchyme profond du tégument externe et dans les cellules du tégument interne ».

*Quillaja Saponaria* Mol.

Wogl localise la saponine dans toutes les cellules du parenchyme COMBES prétend qu'elle existe surtout dans le phelloderme et dans les cellules du bois, et cette région, selon lui, serait plus riche que l'écorce

*Cyclamen europæum* L.

D'après M<sup>me</sup> DUCHER, qui a employé l'acide sulfurique sélénieux, la saponine serait située surtout au voisinage des faisceaux de la racine.

Dans le rhizome, COMBES la localise dans les cellules qui bordent les lacunes membraneuses que l'on trouve dans tout le tissu parenchymateux du tubercule.

*Primula officinalis* L.

M<sup>me</sup> DUCHER trouve la saponine dans l'endoderme et les cellules sus-endodermiques de la racine, au moyen de l'acide sulfurique sélénieux.

Le réactif de MILLON colore bien certaines cellules, mais ce sont les cellules à tanin ; d'ailleurs la cyclamine (provenance MENCK) ne donne rien *in vitro* avec le réactif de MILLON.

Tels sont les résultats que nous possédons jusqu'alors sur la localisation des saponines. C'est en réalité bien peu de chose, puisque l'on connaît 354 espèces végétales, appartenant à 58 familles et 87 genres, qui renferment des saponines.

Les résultats obtenus sur les plantes citées plus haut sont eux-mêmes bien vagues, et l'on comprend que les deux auteurs qui se sont le plus occupé de la question aient fait quelques restrictions à leurs conclusions. Ce sont en effet plutôt des moyens de caractérisation que des méthodes de localisation dans la cellule.

Si l'on connaissait mieux la constitution chimique d'une ou de plusieurs saponines, peut-être, en employant le second procédé de COMBES (précipitation par l'eau de baryte), arriverait-on à des résultats plus précis. Mais, pour le moment, nous devons reconnaître que les recherches précédentes ne peuvent guère nous servir ; elles n'apportent en tout cas aucun fait intéressant concernant le rôle de ces substances.

#### IV

### RÉSULTATS GÉNÉRAUX FOURNIS PAR LA LOCALISATION DES GLUCOSIDES

Les résultats obtenus par les essais de localisation des glucosides se rapprochent beaucoup de ceux qu'a fournis la localisation des alcaloïdes.

Toutefois, nous ne possédons pas, pour caractériser les glucosides au sein des tissus, de méthodes générales analogues à celles indiquées pour les alcaloïdes. Il faut avoir recours, pour chaque glucoside ou pour chaque groupe de glucosides de constitution très voisine, à des réactions particulières et, le plus souvent, à des réactions de coloration.

Les glucosides existent toujours en dissolution dans le suc cellulaire ; on a bien signalé parfois leur présence dans les membranes (*coniférine*, *crocine*), mais cette remarque mériterait une vérification plus précise.

Très souvent, les glucosides sont accompagnés dans la cellule de composés tanniques, avec lesquels ils peuvent contracter des combinaisons chimiques plus ou moins stables (*esculine*, *fustine*).

Il est rare d'observer une répartition vraiment spécifique des glucosides ; cependant, l'*aloïne* se trouve uniquement dans le péricycle des faisceaux foliaires, et les glucosides des Cucurbitacées, dans des laticifères spéciaux, les « idioblastes » de BREMER.

Les glucosides, d'une manière générale, se trouvent dans tous les organes de la plante ; la graine seule en est très souvent dépourvue. Ils se répartissent en petites quantités dans les parenchymes libérien, cortical, ligneux, mais les tissus d'élection sont : l'épiderme, l'endoderme, les rayons médullaires, la périphérie de la moelle. On les retrouve dans les poils tecteurs épidermiques ; il sont absents des cellules à oxalate de calcium, des tubes criblés, des vaisseaux de bois.

Dans les organes en voie de développement, on ne constate la présence de glucoside qu'à une petite distance du point végétatif ; il est disséminé sans ordre dans tout le parenchyme encore non différencié.

Les glucosides ne semblent pas être un produit direct de l'assimilation chlorophyllienne. Ils peuvent se former aux dépens des matériaux de réserve accumulés dans l'embryon, dans la germination, à l'obscurité, de graines dépourvues de glucosides. La lumière ne joue dans leur formation aucun rôle immédiat. Elle intervient seulement de façon

indirecte pour fournir les hydrates de carbone nécessaires à la construction de leur molécule.

Divers facteurs peuvent les modifier; ainsi, après action des ferments, les produits de dédoublement de certains glucosides s'oxydent à la lumière, avec production de teintes rouges, jaunes, ou noires, qui communiquent cette coloration aux divers organes des végétaux.

Le transport des glucosides dans les parties externes de la tige et des feuilles permet leur élimination partielle par le moyen des rhytidomes, ou favorise l'oxydation de leurs produits de dédoublement. On ne saurait considérer la présence et même l'accumulation des glucosides dans l'écorce, en hiver, comme une mise en réserve de ces substances.

Les migrations des glucosides sont encore plus difficiles à suivre microchimiquement que celles des alcaloïdes. On ne peut avoir à leur sujet, par cette méthode de recherches, que des indications très vagues. Il faudra donc encore, pour les suivre, recourir à la méthode chimique. Comme nous l'avons fait pour les alcaloïdes, nous exposerons ici les migrations et variations des glucosides, dans les conditions normales de végétation et les variations provoquées expérimentalement. Les conclusions de ces expériences seront les bases sur lesquelles nous pourrons établir les hypothèses concernant leur rôle biologique.

## DEUXIÈME PARTIE

---

### BIOLOGIE DES GLUCOSIDES NON AZOTÉS

Nous avons d'abord, dans la première partie de l'étude que nous leur avons consacrée, exposé nos connaissances sur la constitution des glucosides. Ils sont formés de la combinaison d'un sucre avec un ou plusieurs composés de nature chimique très variable, mais dont l'un renferme généralement un noyau aromatique.

L'exposé des méthodes employées pour les localiser et des résultats obtenus par ces méthodes nous a montré ensuite leur répartition dans les tissus végétaux.

Les connaissances que nous avons de la structure et de la localisation des glucosides nous permettront-elles de leur attribuer un rôle biologique particulier et bien défini? Il nous faudra, avant de répondre à cette question, joindre aux connaissances précédentes celles que nous possédons sur leur mode de formation et sur leurs migrations et leurs variations quantitatives au cours de la végétation. Alors seulement, nous pourrons juger du rôle des glucosides dans la vie du végétal. Plus heureux qu'en ce qui concerne les alcaloïdes, nous pourrons, sinon apporter la solution définitive, du moins choisir parmi plusieurs hypothèses la plus probable, et vraisemblablement la plus conforme à la réalité.

Dans cette étude, nous consacrerons un chapitre spécial aux glucosides cyanogénétiques. L'homogénéité de structure de ces derniers, leur présence dans de très nombreux végétaux appartenant aux familles les plus variées, le rôle attribué par certains auteurs à l'acide cyanhydrique dans la formation des albuminoïdes, communiquent à ce groupe de composés une physionomie suffisamment caractéristique pour en légitimer l'étude séparée.

---

## MODE DE FORMATION DES GLUCOSIDES

Il n'a été fait sur la formation des glucosides — les glucosides cyanogénétiques exceptés — aucune recherche proprement dite. On a proposé, pour expliquer cette formation, plusieurs hypothèses bien étroites, et qui sont loin d'avoir la haute portée de l'hypothèse par laquelle PICTET ou VINTERSTEIN expliquent la genèse des alcaloïdes.

Dans la formation de la molécule glucosidique, il faut considérer l'origine du sucre, celle du ou des groupements unis à la molécule sucrée, montrer enfin par quel mécanisme peut se faire l'union de ces deux constituants du glucoside.

On ne saurait étudier ici l'origine des sucres : c'est un chapitre parfaitement distinct, et des plus importants, de la biochimie végétale, et nous supposerons le sucre formé.

Quant aux groupements non hydrocarbonés du glucoside, ils peuvent avoir des structures très variées et présenter les fonctions les plus diverses. On a vu pourtant que, dans la plupart des cas, on y retrouve le noyau benzénique, pourvu d'une ou plusieurs fonctions phénoliques. Ces fonctions, quand elles sont libres, sont nocives pour le végétal. Aussi, ces oxhydriles (excepté l'oxhydrile lié au sucre) sont très généralement étherifiés par un groupement méthyle.

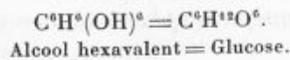
Ces groupements phénoliques eux-mêmes, d'où proviennent-ils ? On peut supposer qu'ils proviennent, soit des albuminoïdes, soit des hydrates de carbone.

Leur origine protéique est bien peu probable. La destruction des albuminoïdes donne bien, entre autres substances, des composés phénoliques, mais bien éloignés de ceux qui nous intéressent (tyrosine, phénylalanine, etc.).

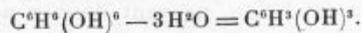
Une autre hypothèse, qui s'applique spécialement aux phloroglucides, a été émise par WAAGE (1). Elle consiste à faire dériver la phloroglucine et, par suite, les phloroglucides, des hydrates de carbone et, en particulier, du glucose.

1. W. WAAGE : Ueber das Vorkommen und die Rolle des Phloroglucins in der Pflanze. *Ber. d. d. bot. Gesell.*, 8, 250, 1890.

L'idée n'est pas nouvelle: CRATO (1), dans sa théorie de la fonction chlorophyllienne, admet que la combinaison de l'anhydride carbonique et de l'eau, sous l'action des radiations lumineuses et de la chlorophylle, conduit à un alcool hexavalent  $C^6H^6(OH)^6$ . Ce corps identique ou en tout cas isomère de l'inosite, éprouverait, d'après l'auteur, une modification moléculaire, à l'accomplissement de laquelle la lumière n'est sans doute pas étrangère, qui le transformerait en glucose :

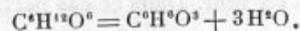


Ce même corps pourrait aussi se convertir, par une déshydratation partielle, en phloroglucine :

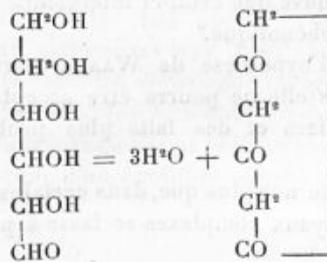


Cette théorie fait dépendre directement la formation de la phloroglucine de la fonction chlorophyllienne.

WAAGE ne partage pas cette opinion, et fait remarquer que, si l'on peut contrôler la formation de l'amidon dans le grain de chlorophylle, par contre on n'y trouve jamais de phloroglucine. Il attribue alors la formation de ce polyphénol à une réaction chimique de déshydratation qui se passe, en dehors de la chlorophylle, dans le suc cellulaire. L'amidon se forme à partir du glucose par élimination d'eau. Si l'on veut bien admettre, dit-il, que dans les endroits où le processus de la nutrition est intense (comme les feuilles, les fleurs, etc.), la réaction va plus loin, et que la molécule de sucre perd  $3H^2O$ , on obtiendra alors la phloroglucine :



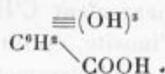
Cette transformation, à partir du glucose, se conçoit surtout bien si l'on considère que la phloroglucine peut exister sous la forme tautomérique d'une hexaméthylènetricétone :



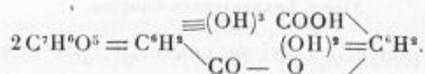
L'hypothèse de WAAGE mérite de retenir notre attention, car elle nous

1. E. CRATO: Gedanken über die Assimilation und die damit verbundene Säurestoffausscheidung. *Ber. d. d. bot. Gesell.*, 10, 250-256, 1892.

permet d'entrevoir le mode de formation des tanins. En effet, sous l'action de l'acide carbonique naissant, la phloroglucine se transforme en acide *phloroglucine carbonique*:



et une anhydrisation entre deux molécules de cet acide nous conduit à l'acide *phloroglucine-tannique* ou *phlorotanin*.



Ces composés, par oxydation, peuvent donner naissance aux phlobaphènes, etc. (1).

Si l'on admet également que la déshydratation du glucose peut tout aussi bien produire le pyrogallol, triphénol isomère de la phloroglucine, on aura, par une suite de réactions analogues, l'acide *gallique*, puis l'acide *digallique*, ou *tanin* de SCHIFF.

WAAGE a essayé de démontrer le bien-fondé de son hypothèse, en laissant séjourner pendant cinq jours, à l'obscurité, des feuilles d'*Acer platanoides* L., *Platanus occidentalis* L., *Quercus sessiliflora* Salisb., dans une solution sucrée. Les réactions de la phloroglucine étaient beaucoup plus nettes que dans un lot de feuilles témoins.

Il faut beaucoup nous méfier de ces expériences, dans lesquelles on fait vivre des plantes à la surface de solutions nutritives. On leur fait dire un peu tout ce que l'on veut. Dans ce cas particulier, le fait pour la plante de vivre au milieu d'une solution sucrée amène une modification générale de la nutrition, des phénomènes respiratoires. L'augmentation de la phloroglucine peut être, tout aussi bien, sous la dépendance de ces phénomènes physiologiques modifiés par la présence de l'hydrate de carbone; il n'est pas prouvé que celui-ci intervienne directement dans la formation du composé phénolique.

Quoi qu'il en soit, l'hypothèse de WAAGE mérite de ne pas être écartée d'emblée; mais elle ne pourra être acceptée que lorsque des expériences plus précises et des faits plus probants seront venus l'étayer.

Il n'est pas impossible non plus que, dans certains cas, la formation de certains composés à noyaux complexes se fasse à partir de ces dérivés

1. SCHIFF: *Ann. d. Chem.*, 245, 36, 1888; 252, 87, 1889, a montré que l'acide carbonique transforme la phloroglucine en acide phloroglucine-carbonique; celui-ci donne un anhydride que SCHIFF désigne sous le nom d'acide phloroglucine-tannique. Ce composé, chauffé, donne une substance rouge (rouge du phlorotanin), qui se rapproche beaucoup des phlobaphènes.

phénoliques. Nous avons eu l'occasion de signaler l'existence simultanée, dans certaines cellules de la Rhubarbe <sup>(1)</sup>, de tanins et de dérivés anthraquinoniques. Parmi les produits d'hydrolyse de ces tanins, on rencontre l'acide gallique et l'acide cinnamique. GILSON <sup>(2)</sup>, frappé de ce fait, avait fait remarquer que la condensation de deux molécules d'acide gallique donne une hexaoxyanthraquinone, que la condensation d'une molécule d'acide gallique et d'une molécule d'acide cinnamique donne une trioxyanthraquinone. Il est donc possible de concevoir une formation de dérivés anthraquinoniques à partir de dérivés phénoliques. Sans attacher à ce fait une signification générale, il n'était pas sans intérêt de le rappeler.

Quoi qu'il en soit de l'origine de ces composés phénoliques, il faut expliquer maintenant comment ils se combinent aux sucres. Cette combinaison entre un oxhydrile phénolique du noyau et une fonction alcool du sucre, formation d'un éther oxyde, s'accompagne de l'élimination d'une molécule d'eau.

CHARABOT et HÉBERT <sup>(3)</sup>, étudiant l'éthérisation des alcools par les acides chez les végétaux à essence (formation de l'acétate de linalyle par exemple), montrent qu'elle s'effectue comme si l'on était en présence d'un agent déshydratant tel que l'acide sulfurique. Cette éthérisation est, d'autre part, d'autant plus poussée que l'assimilation chlorophyllienne est plus active, influencée par les mêmes agents que cette dernière. Les auteurs la rapportent à l'action d'une diastase déshydratante.

On peut supposer, sans invraisemblance, qu'un mécanisme analogue intervient dans l'union du noyau phénolique au sucre. On verra, à propos des composés cyanogénétiques, comment influent l'assimilation chlorophyllienne et la transpiration sur la formation de ces composés. Des phénomènes analogues se conçoivent fort bien pour les autres glucosides.

Cette éthérisation nécessite-t-elle l'existence d'agents spéciaux, de diastases déshydratantes? De tels agents n'ont encore jamais été signalés; mais on sait maintenant que, dans certaines conditions, les ferments hydrolysants capables de scinder un glucoside en ses constituants peuvent, au contraire, les recombinaison pour régénérer le glucoside. Ces deux réactions inverses sont réglées par l'établissement, entre les termes de la réaction, d'un équilibre variable avec les conditions de l'expérience.

1. A. GORIS et L. CRÉTÉ : La Rhubarbe de Chine. *Bull. Sc. pharm.*, **14**, 104, 1907.
2. GILSON : Les principes actifs de la Rhubarbe de Chine. *Mém. de l'Ac. roy. de médecine de Belgique*, 1905.
3. E. CHARABOT et A. HÉBERT : Recherches sur le mécanisme de l'éthérisation chez les plantes. *Bull. Sc. Pharm.*, **3**, 356, 1901.

Dès 1909, CIAMICIAN et RAVENNA (1) étaient parvenus à obtenir, *in vivo*, la synthèse d'un glucoside au moyen des ferments existant dans la plante.

Ils introduisent dans de jeunes plants de maïs, soit en les faisant absorber par les racines, soit par une méthode d'inoculation particulière, des substances aromatiques telles que : vanilline, alcool benzylique, saligénine.

Une partie de ces substances est détruite par oxydation, une autre partie reste à l'état libre, une certaine quantité se transforme en glucoside.

On peut facilement se rendre compte de cette transformation en préparant l'extrait aqueux de la plante. Cet extrait, épuisé à l'éther, cède à ce dernier les substances aromatiques qui n'ont pas été combinées. Traitée avec une solution de carbonate de soude, la solution étherée abandonne les acides qui se sont formés par oxydation, tandis que la vanilline, l'alcool benzylique, la saligénine qui n'ont subi aucune transformation, restent dissous dans l'éther. L'extrait aqueux, après un épuisement complet par l'éther, est mis à l'étuve avec de l'émulsine ; au bout de très peu de temps, on obtient une nouvelle quantité de vanilline, saligénine, alcool benzylique. Il y avait donc eu formation d'un composé dédoublable par l'émulsine.

Inversement, si l'on injecte ou si l'on fait absorber aux plantes l'amygdaline, la salicine, l'arbutine, ces substances sont dédoublées et il y a oxydation d'une partie des composés aromatiques libérés. La décomposition va jusqu'à une certaine limite, qui est celle que l'on obtient dans les expériences de synthèse. Il y aurait donc une sorte d'équilibre chimique.

Ces expériences ont été poursuivies et CIAMICIAN et RAVENNA (2) ont pu isoler la salicine ainsi formée synthétiquement.

140 plants de maïs, pesant 98 kg., inoculés par 200 gr. de saligénine, ont été traités de la façon suivante. On prépare un extrait aqueux qu'on lave à l'éther. La solution étherée, épuisée par une solution de carbonate de soude, abandonne l'acide salicylique formé par oxydation. La saligénine non transformée reste en dissolution dans l'éther. L'extrait aqueux, lavé à l'éther, est concentré, puis épuisé à l'éther acétique. On obtient des cristaux qui, après purification, fondent à 198-199°. Le produit hydrolysable par l'émulsine est donc bien de la salicine.

1. G. CIAMICIAN et C. RAVENNA : Su la formazione dei glucosidi per mezzo della piante. *Rendiconti d. r. Acc. dei Lincei* (5<sup>e</sup> sér.), **18**, 594-596, 1909.

Sul contegno di alcune sostanze organiche nei vegetali. *Gaz. chim. ital.*, **38**, 682, 1908 ; *Acc. d. Scienze dell'Istituto di Bologna* (6<sup>e</sup> sér.), **5**, 29-40, 1908 ; **6**, 109-120, 1909.

2. G. CIAMICIAN et C. RAVENNA : Sintesi della salicina per mezzo della piante. *Rendiconti d. r. Acc. dei Lincei* (5<sup>e</sup> sér.), **18**, 418-422, 1909.

Enfin, au lieu d'expérimenter avec des plantes vivantes, CIAMICIAN et RAVENNA ont opéré avec une pulpe de jeunes plants de maïs. Dans ces conditions, ils ont également obtenu la formation d'une certaine quantité de salicine. En opérant avec la pyrocatechine, l'hydroquinone, et le nitrile phénylglycolique, ils n'ont obtenu la formation que de très faibles quantités des composés glucosidiques correspondants.

Les conditions de cette formation synthétique ne sont pas encore très bien connues ; la lumière semble jouer un rôle qui n'est pas très nettement établi.

D'autres auteurs ont étudié les phénomènes de synthèse *in vitro*.

Les premières remarques à ce point de vue sont celles de CROFT HILL (1898) qui obtint, par l'action de la maltase sur le glucose, un isomère du maltose, l'isomaltose. Divers auteurs cherchèrent dans la même voie sans grand succès. Tout récemment, BOURQUELOT a réalisé la synthèse de plusieurs glucosides sous l'influence de l'émulsine. Avec ses élèves, il a préparé, à partir du glucose, divers glucosides d'alcools (alcool méthylique, alcool éthylique, glycérine, etc.). Il a pu obtenir le salicyl-glucoside isomère de la salicine, et les glucosides du géraniol, du linalol, dont l'existence est probable chez les plantes à linalol et géraniol. Le même auteur a réussi la synthèse du gentiobiose, sous l'influence de l'invertine.

Tous ces travaux sont de la plus haute importance pour la solution du problème qui nous occupe. Ils ne le résolvent pas tout entier, mais réalisent dans cette voie un progrès considérable. Sans doute, les diverses synthèses obtenues par BOURQUELOT et ses élèves se font dans des conditions évidemment différentes de celles qui se rencontrent dans les tissus du végétal. Mais il n'en reste pas moins acquis que les ferments hydrolisants, la glucosidase, l'émulsine, par exemple, peuvent construire le glucoside qu'ils dédoublent en d'autres moments. Au succès de cette construction, certaines conditions sont nécessaires, qui nous sont encore inconnues actuellement. Mais il est possible qu'à de certains moments de la vie du végétal, ces conditions, heureusement établies, permettent la formation du glucoside dont les mêmes facteurs amèneront, dans d'autres conditions, le dédoublement.

## II

### MIGRATION DES GLUCOSIDES AU COURS DE LA VÉGÉTATION

L'étude de la migration des glucosides au cours de la végétation<sup>1</sup> fait l'objet de peu de recherches, en dehors de celles qui concernent les glucosides à acide cyanhydrique. Il faut bien dire, il est vrai, que le dosage de ces composés ne se fait pas avec la même facilité, avec la même rigueur, que le dosage des alcaloïdes ou de l'acide cyanhydrique.

THEORIN, au moyen des réactions microchimiques (coloration par l'acide sulfurique), avait bien essayé de suivre les variations de la salicine et de la populine au cours de la végétation. Il avait conclu de ses investigations que ces glucosides diminuent au moment de la pousse des bourgeons, pour augmenter dès que l'activité assimilatrice se fait sentir. On ne peut guère établir de conclusions sur ces résultats, car l'évaluation des glucosides au moyen des méthodes microchimiques est tout à fait incertaine.

Enfin, par des méthodes quantitatives, il avait montré qu'au printemps il y a diminution des glucosides dans l'écorce. Ces résultats ne peuvent guère nous servir, car l'auteur a uniquement dosé la salicine en p. 100, mais n'a pas indiqué si la quantité absolue diminue réellement. Or, le pourcentage peut très bien baisser sans que la quantité absolue soit diminuée : tout cela dépend de l'état d'hydratation de l'écorce au moment du dosage.

La méthode biochimique indiquée par BOURQUELOT est la seule qui permette de nous donner quelques renseignements sur les variations d'un glucoside connu pendant le développement de la plante. Aussi l'auteur et ses élèves n'ont-ils pas manqué de faire quelques observations dans le but d'étudier le rôle des glucosides chez les végétaux.

VINTILESCO<sup>(1)</sup> a étudié tout spécialement, à ce point de vue, la syringine dans les organes des Lilas et des Troènes.

1. J. VINTILESCO : Recherche et dosage de la « Syringine » dans les différents organes des Lilas et des Troènes. *Journ. Pharm. Chim.* (6<sup>e</sup> s.), **24**, 145-149, 1906. Recherches sur les glucosides de quelques plantes de la famille des Oléacées. *Th. Doct. Un. Pharm.*, Paris, 1906.

Dans le *Ligustrum vulgare* L., la proportion de glucoside est la suivante par 100 grammes d'organe frais :

15 mars . . .	Feuilles . . . . .	1,53 p. 100
— . . . .	Ecorce . . . . .	0,96 —
18 mai . . .	Vieilles feuilles . . . . .	0,232 —
— . . . .	Jeunes feuilles . . . . .	1,602 —

Chez le *L. lucidum* Buch. Ham., on trouve des résultats analogues :

20 janvier . .	Feuilles . . . . .	3,63 p. 100
— . . . .	Ecorce . . . . .	1,46 —
23 mai . . .	Vieilles feuilles . . . . .	1,904 —
— . . . .	Jeunes feuilles . . . . .	2,604 —

Le *L. japonicum* Thunb. (?) et le *L. spicatum* Buch. Ham. se comportent de la même façon.

Pour le Lilas (*Syringa vulgaris* L.), l'auteur trouve les chiffres suivants :

13 avril . . .	Feuilles . . . . .	1,50 p. 100
— . . . .	Ecorce . . . . .	0,837 —
— . . . .	Bois . . . . .	0,334 —
6 février . .	Ecorce . . . . .	0,648 —

Le dosage de la syringine n'a pas été fait au moment de la chute des feuilles, mais l'auteur admet que les choses se passent comme dans les Troènes.

Dans ces végétaux, les feuilles sont les organes les plus riches en syringine. Le glucoside qui, en hiver, se trouve en assez grande quantité dans les feuilles (les feuilles sont persistantes), tend à disparaître au moment de leur chute, c'est-à-dire, suivant les espèces, au printemps ou dans le courant de l'été. De ce fait, VINTILESCO croit pouvoir conclure que la syringine ne doit pas être considérée comme un déchet de l'activité végétale, mais plutôt comme une matière de réserve, que la plante utilise dans une certaine mesure.

C'est peut-être aller un peu loin que de vouloir établir une hypothèse sur les résultats précédents. Nous ferons d'ailleurs à l'auteur les mêmes reproches qu'à THEORIN. Il a exprimé ses résultats par rapport aux organes frais; il a oublié de comparer l'état d'hydratation de ces matériaux. Or, une augmentation d'humidité peut faire varier le pourcentage. Il est facile de concevoir que, dans un même échantillon, on pourrait faire varier le titre en glucoside, en faisant absorber à la plante une certaine quantité d'eau. Dans la nature, les mêmes variations se produiront suivant certaines conditions. Il en sera de même pour les dosages effectués sur des organes jeunes ou des organes âgés.

Malgré cette critique, et sans avoir une valeur absolue, les chiffres de VINTILESCO ne sont pas sans intérêt. Il est incontestable qu'il y a dimi-

nution de glucosides dans les feuilles âgées, mais c'est tout ce que nous pouvons en déduire.

En suivant, dans l'olive, de son apparition à la maturité, les variations de l'*Oleuropéine*, BOURQUELOT et VINTILESCO ont obtenu des résultats plus nets et plus intéressants. Nous extrayons du tableau donné par les auteurs les chiffres qui montrent cette variation :

100 <sup>cm</sup> ³ DE SOLUTION POUR 100 GRAMMES D'ORGANES FRAIS		DÉVIATION initiale	RETOUR à droite après action de l'émulsine	SUCRE réducteur formé
28 juillet. . . . .	Olives fraîches . . . . .	— 7° 32'	+ 7° 32'	2,90
8 août . . . . .	— . . . . .	— 7,22'	+ 7,18'	2,733
16 août . . . . .	— . . . . .	— 4,59'	+ 5,31'	1,949
17 septembre. . . . .	— . . . . .	— 1,20'	+ 1,54'	0,744
15 octobre . . . . .	— . . . . .	— 0,45'	+ 1,8'	0,397
Olive du commerce. . . . .		0	0	0

Les retours vers la droite et la diminution du sucre réducteur formé montrent qu'il y a une diminution des principes glucosidiques dans l'olive, au cours de la végétation. Le glucoside est en forte proportion avant le durcissement du noyau du fruit (juillet et début d'août); il diminue ensuite graduellement. Pendant la dessiccation des olives, on observe une diminution analogue : c'est ainsi que des olives récoltées le même jour, et sur lesquelles on a fait le dosage biochimique avant et après dessiccation, ont donné les chiffres suivants :

100 <sup>cm</sup> ³ DE SOLUTION POUR 100 GRAMMES D'ORGANES FRAIS		DÉVIATION initiale	RETOUR à droite après action de l'émulsine	SUCRE réducteur formé
16 août . . . . .	Olives fraîches . . . . .	— 4° 59'	+ 5° 31'	1,949
— . . . . .	Olives desséchées . . . . .	— 3,6'	+ 3,58'	1,414
17 septembre. . . . .	Olives fraîches . . . . .	— 1,20'	+ 1,54'	0,744
— . . . . .	Olives desséchées . . . . .	— 0,45'	+ 1,7'	0,410

Il y a donc disparition d'un tiers du glucoside pendant la dessiccation. A la longue, celui-ci disparaît complètement, et l'on n'en trouve plus trace dans les olives du commerce.

D'après ces auteurs (1), le glucoside n'apparaît nullement comme un

1. BOURQUELOT et VINTILESCO : Sur les variations de la proportion d'Oleuropéine dans l'olive, depuis son apparition jusqu'à sa maturité. *Journ. Pharm. Chim.* (7<sup>e</sup> s.), 1, 292, 1910.

déchet de la plante. Cette conclusion serait indiscutable si l'on pouvait prouver que ce glucoside a bien été employé par le végétal; mais rien ne prouve qu'il n'a pas été détruit tout simplement. Le glucose libéré a évidemment dû servir à la plante, mais qu'est devenu le produit de dédoublement qui l'accompagnait?

Par contre, un autre élève de BOURQUELOT, BRIDEL, a suivi la variation des glucosides *gentiopicrine* et *méliatine*, dans les *Gentiana lutea* L. et *Menyanthes trifoliata* L., et ses conclusions sont tout à fait différentes des précédentes.

Il a étudié, à différentes époques, le Trèfle d'eau par la méthode biochimique; nous ne retiendrons de ses résultats que ceux qui nous intéressent, et principalement le retour à droite après action de l'émulsine, la quantité de sucre réducteur formé et la quantité de méliatine existant dans la plante :

100 <sup>cm</sup> ³ DE SOLUTION pour 100 gr. d'organes frais	RETOUR A DROITE après action de l'émulsine	SUCRE RÉDUCTEUR formé	QUANTITÉ de méliatine
11 mai . . . . .	1° 40'	0,438	0,762
25 mai . . . . .	1,57'	0,518	0,891
14 juin . . . . .	1,36'	0,486	0,731
1 <sup>er</sup> juillet . . . . .	1,31'	0,425	0,693
6 août . . . . .	1,28'	0,421	0,670
7 septembre . . . . .	1,30'	0,411	0,685
7 octobre . . . . .	1,26'	0,432	0,635

Le Trèfle d'eau renferme la plus forte proportion de glucoside en mai, au moment où les fleurs apparaissent, alors que les feuilles sont à peine développées.

Avec le *Gentiana lutea* L. on trouve des résultats analogues :

100 <sup>cm</sup> ³ DE SOLUTION pour 100 gr. d'organes frais	RETOUR A DROITE après action de l'émulsine	SUCRE RÉDUCTEUR formé	QUANTITÉ de gentiopicrine
24 mai . . . . .	8° 52'	0,991	1,959
3 juin . . . . .	9,21'	1,047	2,069
23 — . . . . .	10,45'	1,202	2,376
13 juillet . . . . .	10,5'	1,151	2,275
26 — . . . . .	10,17'	1,144	2,261
11 août . . . . .	9,10'	1,026	2,028
18 — . . . . .	10,1'	1,125	2,224
17 septembre . . . . .	9,17'	1,021	2,018
1 <sup>er</sup> octobre . . . . .	9,40'	1,068	2,111
2 novembre . . . . .	9,31'	1,054	2,083

La variation de la gentiopicine est faible ; c'est dans les mois de juin et de juillet que la proportion de ce glucoside est un peu plus élevée.

Ces résultats sont d'autant plus intéressants que l'auteur a fait en même temps le dosage des hydrates de carbone de réserve (sucres), et qu'il a trouvé, pour ceux-ci, de très grandes variations suivant l'époque de la végétation.

C'est ainsi que, pour le Ményanthe, il trouve une proportion plus forte de saccharose à la fin de la végétation. Il y a, pour ainsi dire, mise en réserve de cette substance :

100 <sup>cm</sup> ³ DE SOLUTION pour 100 gr. d'organes frais	RETOUR A GAUCHE après action de l'invertine	SUCRE RÉDUCTEUR formé
11 mai . . . . .	— 2° 4'	1,210
25 — . . . . .	— 1,31'	1,060
14 juin . . . . .	— 1,29'	0,950
1 <sup>er</sup> juillet . . . . .	— 2,43'	1,957
6 août . . . . .	— 3,7'	2,208
7 septembre . . . . .	— 3,24'	2,482
7 octobre . . . . .	— 2,41'	2,761

Pour la Gentiane, qui renferme plusieurs sucres, BRIDEL<sup>1</sup> a trouvé des résultats analogues. Le saccharose s'accumule dans la racine à la fin de la végétation (octobre-novembre), et disparaît, ainsi que la plus grande partie du gentianose, au début du printemps, à la reprise de la végétation. C'est en août et septembre que la plante renferme la plus forte proportion de gentianose.

Enfin, on peut constater que la teneur en hydrates de carbone hydrolysables par l'invertine (saccharose et gentianose), varie de 1,213 au début de la végétation, à 7,826 à la fin de la végétation.

On conçoit, d'après la façon dont se comportent d'une part la gentiopicine, la méliatine et, d'autre part, les hydrates de carbone (substances de réserve par excellence), que BRIDEL ait hésité à ranger ces glucosides parmi les substances de réserve, et qu'il se soit demandé « quelle pourrait bien être l'utilité de ces substances pour la plante qui les élabore ».

Des résultats analogues ont été trouvés par BOURQUELOT et

1. MARC BRIDEL : Variations dans la composition du Trèfle d'eau (plante entière), au cours de la végétation d'une année. *Journ. Pharm. Chim.* (7<sup>e</sup> s.) 7, 524-535, 1913 ; Variations dans la composition de la racine de Gentiane, au cours de la végétation d'une année. *Journ. Pharm. Chim.* (7<sup>e</sup> s.), 3, 294-305, 1911.

M<sup>lle</sup> FICHTENHOLZ (1) pour la teneur en arbutine de divers poiriers, à différentes époques de la végétation :

Poiriers de Carisi . . .	2 juin . . . . .	1,97 p. 100
— . . . . .	15 septembre . . . . .	1,88 —
Poiriers Louise-Bonne . . .	14 mai . . . . .	1,15 —
— . . . . .	2 novembre . . . . .	1,24 —

Les feuilles de cette dernière espèce avaient été cueillies, à dessein, au moment où elles se détachaient de l'arbre, par conséquent à la fin de la végétation.

Les recherches citées précédemment portaient sur les migrations des glucosides au cours de la végétation tout entière. D'autres recherches ont eu pour objet les variations journalières de la teneur en glucoside et l'influence que peuvent avoir, sur ces variations, la lumière et la fonction chlorophyllienne.

TUNMANN (2) a fait, sur le rôle de la lumière, quelques expériences concernant l'hésperidine. Il a placé des pieds de Menthe et d'Hysope, cultivés en pots, à l'obscurité pendant deux mois. L'hésperidine n'a pas diminué, et les plantes cultivées à l'obscurité étaient tout aussi riches que celles développées à la lumière.

Mais les recherches les plus intéressantes sont celles qu'a faites WEEVERS sur les *Salix*.

WEEVERS (3), dosant la salicine dans les *Salix alba* L. et *S. Helix* L., soit aux différentes époques de la végétation, soit aux diverses heures de la journée, a essayé de pénétrer plus intimement le phénomène de la migration des glucosides, et ses intéressantes recherches doivent être exposées en détail.

Malgré notre désir de séparer dans cette étude les faits expérimentaux des hypothèses qu'ils autorisent, nous devons examiner ici, en même temps, les unes et les autres, les hypothèses de WEEVERS formant entre ses expériences un lien nécessaire sans lequel leur exposé serait des plus arides et peu compréhensible. Cette hypothèse sera d'ailleurs discutée

1. EM. BOURQUELOT et M<sup>lle</sup> FICHTENHOLZ : Nouvelles recherches sur le glucoside des feuilles de Poirier ; son rôle dans la production des teintes automnales de ces organes. *Journ. Pharm. Chim.* (7<sup>e</sup> s.) **3**, 1-13, 1911.

2. O. TUNMANN : Ueber die Kristallauscheidungen in einigen Drogen (Hesperidin). *Schw. Woch. f. Chem. u. Pharm.*, **47**, 777-797, 1909.

3. Th. WEEVERS : Die physiologische Bedeutung einiger Glycoside. *Jahrbuch. f. wiss. Botanik*, **39**, 229-271, 1903; Die physiologische Bedeutung einiger Glycoside. *Recueil des travaux botaniques néerlandais*, **7**, 1910; The physiological significance of certain glucosides. *Koninklijke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam*, 193-201, 1909.

plus complètement dans le chapitre consacré à l'étude du rôle des glucosides.

La méthode de dosage employée est la suivante :

Les tissus : feuilles, écorces sont épuisés par l'eau bouillante ; la solution est déféquée par l'acétate de plomb, puis par le phosphate disodique. La solution de salicine est hydrolysée par un contact de plusieurs jours avec l'émulsine<sup>(1)</sup>. Les dosages du glucose, avant et après action du ferment, donnent la proportion de glucoside.

Le dosage se fait toujours sur des matériaux frais, car WEEVERS a préalablement constaté que, par la dessiccation, il y avait perte de salicine. C'est ainsi que des branches de 6 à 8 millimètres de diamètre, divisées longitudinalement, ont donné, avant et après la dessiccation, les chiffres suivants :

Ecorces fraîches traitées par l'eau bouillante : 0,60 de glucose, 4,30 p. 100 de salicine ;

Ecorces séchées à l'air : 1,10 de glucose, et 3,30 p. 100 de salicine.

Dans la détermination du glucose provenant de la salicine, il faut éviter l'erreur que pourrait donner une hydrolyse, au moins partielle, de l'amidon. Le dosage de l'amidon se fait sur la matière sèche, prélevée au même moment que l'échantillon précédent, et dans des conditions identiques ; on solubilise l'amidon par chauffage, sous trois atmosphères, dans un autoclave, pendant trois heures. On filtre, et le liquide filtré est hydrolysé, par chauffage pendant trois heures avec l'acide chlorhydrique fort. La quantité de glucose formée, diminuée de la quantité de glucose fournie par le glucoside, et du glucose préexistant dans la plante, donne le glucose provenant de l'amidon.

Examinons maintenant les expériences de WEEVERS consacrées successivement : à l'étude des migrations au cours de l'année, puis à leur étude au cours d'une même journée.

1<sup>o</sup> *Migration au cours de l'année.* — Une première série porte sur la migration des glucosides au cours de l'année. Sur de grosses branches, il a prélevé les bourgeons, les petits rameaux de 1 à 4 millimètres de diamètre, sur lesquels les bourgeons étaient fixés, les branches productrices de ces petits rameaux et enfin l'écorce de grosses branches. Il a effectué des dosages de glucose libre, de salicine et d'amidon, à des dates différentes.

Le tableau suivant nous donne les chiffres de ses analyses :

1. L'auteur a constaté, qu'après quarante-huit heures de contact, il y avait 99,40 p. 100 de salicine dédoublée.

		SALI- CINE	GLU- COSE	AMIDON	QUANTITÉ ABSOLUE	
					p. 100	p. 100
24 mars. 298 bourgeons non développés de 5 à 10 <sup>mm</sup> de long.	a) Bourgeons, sans les écailles . .	4,4	0,0	traces.	32,9	0,0
	b) Petits rameaux.	3,2	0,4	9,5	780,5	97,5
	c) Petites branches	4,1	0,5	0	639,2	78
					1452,6	175,5
1 <sup>er</sup> avril. 298 bourgeons non développés de 15 à 20 <sup>mm</sup> de long.	a) Bourgeons . .	0,0	0,0	traces.	0,0	0,0
	b) Petits rameaux.	2,0	0,5	6,0	487,5	121,9
	c) Petites bran- ches . . . . .	2,8	0,7	12,5	436,5	109,1
					924,3	231,0
21 mai. 298 jeunes pousses de 10 <sup>cm</sup> de long. Rameaux sans chatons.	a) Jeunes pousses.	3,5	0,3	10	185,7	17,5
	b) Petits rameaux.	0,4	0,0	11	97,6	0,0
	c) Petites bran- ches . . . . .	2,4	0,6	9	374,2	93,5
					657,5	111,0

Nous voyons que la quantité totale de salicine a diminué pendant la croissance. Dans le bouton, cette diminution a eu lieu pendant le développement, mais le glucoside réapparaît ensuite dans les jeunes pousses; le 1<sup>er</sup> avril, il n'y avait plus de salicine dans les bourgeons et, le 21 mai, on en retrouve 3,5 p. 100, dans les pousses nouvelles.

D'autre part, la diminution de la quantité absolue de salicine, qui se produit graduellement dans les rameaux et les branches, est plus grande que l'augmentation constatée lors de la formation des jeunes pousses. Cette quantité a passé de 1452 mg. 6 à 657 mg. 5, soit une diminution de 45 p. 100.

WEEVERS admet donc que la salicine est employée, lors du développement des bourgeons.

Mais, dans l'expérience précédente, peut-on considérer la branche comme un organe indépendant, et n'y a-t-il pas migration de salicine vers l'écorce des grosses branches qui produisent les rameaux? D'autre part, les feuilles restant sur l'arbre ne viennent-elles pas enrichir en salicine les jeunes pousses en voie de formation?

Pour répondre à cette observation, WEEVERS a fait une série de recherches sur les plantes étiolées. Il fit végéter dans l'eau et à l'obscurité des rameaux séparés, auxquels il enlevait les bourgeons en voie de développement, afin de faciliter le développement des bourgeons dormants.

A la date de l'expérience, la teneur en salicine de l'écorce était de 4,1 p. 100 et de 0,50 p. 100 de glucose ; l'amidon<sup>(1)</sup> s'y trouvait en abondance. On prélève tous les bourgeons des jeunes pousses étioilées, et on y dose les glucosides. On arrête l'expérience au bout de six semaines, et on dose la salicine dans la branche, en prélevant l'écorce dans la partie située au-dessus de l'eau.

L'examen des tableaux suivants montre que la quantité de salicine a

	SALICINE p. 100	QUANTITÉ absolue de salicine en mgr.	GLUCOSE p. 100	QUANTITÉ absolue de glucose en mgr.
Écorce de la branche avant l'ex- périence (mars) . . . . .	4,1	1317,3	0,5	1160,0
Écorce de la branche après l'ex- périence (mai) . . . . .	1,2	385,6	0,1	32,1

NOMBRE de pousses	SEMAINES d'étiollement	LONGUEUR des pousses en mm.	SALICINE p. 100	GLUCOSE p. 100	QUANTITÉ absolue de salicine en mgr.	P. 100 DE POUSES	
						poids sec en mgr.	salicine en mgr.
88	2	18	7,0	7,2	24,6	400	28,6
48	3	85	2,4	5,8	10,3	400	21,6
28	4	99	1,7	5,7	4,8	1.000	17,0
97	6	125	1,4	0	15,0	1.100	15,4
261					54,7		

diminué, aussi bien en valeur absolue qu'en p. 100 ; les pousses de 18 millimètres sont plus riches que celles de 125 millimètres. En examinant la quantité de salicine disparue de l'écorce des branches<sup>(2)</sup>, on trouve 931 mg. 7, tandis que dans les jeunes pousses on en retrouve 54 mg. 7, soit une disparition totale de 877 milligrammes, c'est-à-dire 67 p. 100.

L'utilisation de la salicine lui semble donc établie d'une façon certaine. Ces expériences, comparées aux premières, montrent en outre

1. La teneur en amidon varie parallèlement à la teneur en salicine ; en mars la quantité de cet hydrate de carbone est assez forte dans les petits rameaux ; elle a diminué en avril, pour augmenter en mai avec l'assimilation des jeunes feuilles. Le glucose a peu varié.

2.  $1317,3 - 385,6 = 931,7$ .

que la présence de la lumière semble indispensable pour la formation du glucoside.

Par des analyses du même genre, WEEVERS établit que la salicine sert également au développement des organes de reproduction. Les essais ont été faits sur des branches avec ou sans chatons :

		GLUCOSE	SALICINE
24 mars.	Chatons ♂ grisâtres, cotonneux de 15 <sup>mm</sup> de longueur. . . . .	3,7 p. 100	0,8 p. 100
—	Branches portant les chatons. . . . .	0,9 —	2,0 —
—	Branches ne portant pas de chatons. »	—	3,2 —
3 avril.	Chatons ♂ couverts de pollen . . . . .	1,1 —	0,4 —
—	Branches portant les chatons . . . . .	0,6 —	1,1 —

On peut constater, en outre, que, sur les branches qui portent les chatons, les feuilles sont à peine développées, tandis que celles qui ne portent pas de chatons ont des feuilles très avancées.

Avec les fleurs femelles, après la fécondation, et à la maturité des fruits, on trouve également une diminution de salicine :

	GLUCOSE	SALICINE
Chatons ♀ peu de temps après la fécondation.	0	1,6 p. 100
Après maturité des fruits. . . . .	0	0 —

*Les fruits mûrs ne renferment donc pas de salicine.*

2° Migration au cours de la journée. — WEEVERS a également étudié la migration de la salicine pendant le cours de la journée. Il a employé à ce sujet trois méthodes différentes.

Dans la première méthode, on prend une branche et, après le coucher du soleil, on enlève la moitié des feuilles en les coupant longitudinalement près de la nervure. Le lendemain matin, avant le lever du soleil, on enlève la seconde moitié, en ayant soin de rejeter la nervure.

Dans un second essai, on cueille les feuilles entières après le coucher du soleil, et le lendemain on prélève le même poids de feuilles avant le lever du soleil.

Enfin, dans une troisième série d'expériences, on enveloppe un certain nombre de feuilles de papier noir, et on examine comparativement ces feuilles avec d'autres situées sur le même pied, et qui se sont développées normalement.

Les résultats que l'on obtient sont consignés dans les tableaux suivants :

*Essai I rapporté à 100 demi-feuilles.*

	GLUCOSE	SALICINE
a) 7 août, 8 h. soir (petites feuilles) . . . . .	47 mgr. 05	87 mgr. 2
8 août, 4 h. matin — . . . . .	27 mgr. 4	60 mgr. 2

Il y a diminution de 27 mgr. de salicine, soit 30 p. 100.

	GLUCOSE	SALICINE
b) 7 août, 8 h. soir (grandes feuilles) . . .	80 mgr. 8	177 mgr. 7
8 août, 4 h. matin — . . .	31 mgr. 9	142 mgr. 7

soit une diminution de 35 mgr. de salicine, ou 20 p. 100.

*Essai II.*

	GLUCOSE	SALICINE
7 août, 8 h. soir . . . . .	1,2 p. 100	4,6 p. 100
8 août, 4 h. matin. . . . .	1,1 —	3,2 —
8 août, 8 h. soir . . . . .	2,0 —	4,6 —

Soit une diminution, pendant la nuit, de 30 p. 100 de salicine.

*Essai III.*

	GLUCOSE	SALICINE
Feuilles enveloppées du 6 août, 8 h. du soir, au 8 août, 8 h. du soir . . . . .	1,0 p. 100	3,0 p. 100
Feuilles témoins . . . . .	2,0 —	4,6 —

d'où une diminution de 35 p. 100 de salicine, comparable à ce qui se passe pendant la nuit.

Il y a donc à l'obscurité, dans les feuilles, une diminution de salicine atteignant environ 20 à 30 p. 100 de la quantité totale; il y a augmentation de ce produit pendant la journée, sous l'action de la lumière.

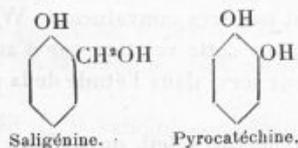
Toutes ces expériences semblent en effet parler en faveur d'une utilisation du glucoside. Que le glucose soit réabsorbé après dédoublement de la salicine, il n'y a là rien que de très naturel, mais ce dédoublement a-t-il eu lieu? Si cela est, que devient l'autre partie de la molécule dédoublee? C'est donc la saligénine qu'il faudrait rechercher et doser.

*Présence simultanée de la saligénine et de la pyrocatechine dans l'écorce du Salix.*

Par une méthode que nous ne rapportons pas ici, WEEVERS a fait cette recherche en avril, dans les jeunes pousses du *S. purpurea* L. et du *S. Helix* L. (\*) et a constaté que la quantité de saligénine était trop faible pour être dosée. Par contre, des liquides d'extraction il a pu isoler de la *pyrocatechine* (*catéchol*) (\*).

1. Pour beaucoup d'auteurs, le *S. Helix* L. est identique au *S. purpurea* L.
2. La substance obtenue est, en effet, cristallisée, sublimable; elle colore le  $Fe^{2+}Cl^{\ominus}$  en bleu verdâtre; point de fusion:  $104^{\circ}$ ; elle donne, avec l'acide diazobenzènesulfonique, de la tropéoline en solution alcaline.

C'était là un fait inattendu. Devrait-on admettre que la saligénine provenant du dédoublement de la salicine se transforme en pyrocatechine? Bien que les formules de ces deux corps soient très voisines (ce sont en effet deux dérivés ortho), la transformation de l'un de ces corps en l'autre par perte de  $\text{CH}^3$  n'est pas réalisable au laboratoire :



En est-il autrement dans la plante? On ne peut l'affirmer, ni même émettre cette hypothèse *a priori*. Toutefois, un fait est curieux: c'est que la pyrocatechine et la salicine existent toutes deux dans l'écorce et font toutes deux défaut dans le bois.

En vue d'éclaircir ce point, WEEVERS a étudié les variations de la quantité de pyrocatechine, en rapport avec celles de la salicine<sup>(1)</sup>.

En opérant sur des plantes vertes, on trouve :

Le 3 mai . . . . .	1,10	p. 100	de pyrocatechine.
Le 15 juillet . . . . .	0,30	—	—

soit une diminution de 0,80 p. 100. La salicine a augmenté de 2 p. 100.

Sur les jeunes pousses des plantes étiolées, au bout de quatre semaines, que trouve-t-on ?

Avant étiolement, sur 10 branches, on prélève 40 gr. d'écorces pesant, sèches, 17 gr. :

Salicine . . . . .	2,1	p. 100	351 mgr. 2
Pyrocatechine . . . . .	0,20	—	36 —

Après quatre semaines, sur 10 branches, on prélève 40 gr. d'écorces, pesant, sèches, 17 gr. :

Salicine . . . . .	1,4	p. 100	287 mgr.
Pyrocatechine . . . . .	0,30	—	59 —
Jeunes pousses ; salicine . . . . .	2,21	—	» »
— pyrocatechine . . . . .	0,20	—	» »

1. La méthode employée pour le dosage de la pyrocatechine, analogue à celle employée par BEHRENS pour le dosage de l'indigo, fut la suivante. On prépare un extrait étheré que l'on évapore au B.-M.; on reprend par l'alcool absolu et on amène à un volume déterminé; on en prélève 1/10 de centimètre cube, que l'on évapore et sublime sur une plaquette imaginée par WYSMANN, et portant une ouverture circulaire de 1 cm. de diamètre. On chauffe cette plaque, et on y ajoute goutte à goutte la solution alcoolique, afin de faire évaporer l'alcool; puis on couvre le résidu avec une lamelle, on dépose une goutte d'eau sur la lamelle pour assurer le refroidissement, et l'on chauffe pour obtenir la sublimation du produit. On opère comparativement avec des solutions alcooliques de pyrocatechine dans l'alcool absolu. En concentrant ou en diluant la solution à essayer, on arrive, dit WEEVERS, à avoir des résultats assez précis, qui ne varient pas de plus de 1 mgr.

Il y a donc eu augmentation de 23 mgr. de pyrocatechine, et disparition de 64 mgr. 2 de salicine. Or, la disparition de 64 mgr. 2 de salicine devrait théoriquement donner 27 mgr. de pyrocatechine; on a donc trouvé 93 p. 100 de la quantité théorique. Il semblerait ainsi y avoir une relation entre la diminution de la salicine et l'augmentation de la pyrocatechine. Mais ce n'est pas très convaincant; WEEVERS le reconnaît lui-même et essaie de prouver cette relation par d'autres expériences, analogues à celles qui lui ont servi dans l'étude de la migration de la salicine pendant la journée.

Le soir, après le coucher du soleil, on prélève des feuilles (poids sec correspondant à 16 gr. 1); on y trouve 95 mgr. de pyrocatechine, soit 0,60 p. 100.

Le matin, avant le lever du soleil, on prélève des feuilles (poids sec correspondant à 14,1); on y trouve 140 mgr. de pyrocatechine, soit 1 p. 100.

Il y a donc eu augmentation de pyrocatechine pendant la nuit, tandis que nous avons vu plus haut que la salicine diminuait à l'obscurité.

Si l'on dose comparativement la salicine et la pyrocatechine, on trouve les résultats suivants:

*Soir*: 200 moitiés de feuilles (poids sec : 5 gr.); 224 mgr. 8 de salicine, soit 4,5 p. 100, et 32 mgr. de pyrocatechine, soit 0,65 p. 100.

*Matin*: 200 moitiés de feuilles (poids sec 4 gr. 9); 162,1 de salicine, soit 3,3 p. 100 et 52 mgr. de pyrocatechine, soit 1,07 p. 100.

Il y a donc eu, pendant la nuit, disparition de 62 mgr. 7 de salicine, et augmentation de 20 mgr. de pyrocatechine, alors que, théoriquement, la quantité de pyrocatechine qui aurait dû se former pour 62 mgr. 7 de salicine était de 24 mgr.

Si l'on fait une expérience analogue sur l'écorce des branches, on trouve un résultat diamétralement opposé.

Ainsi donc, on voit que, la nuit, la proportion de salicine diminue dans les feuilles et augmente dans l'écorce; en même temps, la teneur en pyrocatechine augmente dans les feuilles et diminue dans l'écorce.

Le jour, la salicine augmente dans les feuilles et diminue dans l'écorce; la pyrocatechine diminue dans les feuilles et augmente dans l'écorce.

On peut donc dire que, pendant la nuit, la salicine est transportée des feuilles dans l'écorce, tandis que, pendant la journée, il semblerait y avoir transport de la pyrocatechine de l'écorce dans les feuilles. En un mot, il y aurait deux courants de sens opposés.

*Conclusions de Weevers.*

WEEVERS ne croit pas au transport de la salicine ; le glucose seul serait mobile, et la pyrocatechine restant sur place servirait à la formation de nouvelles quantités de glucoside. Il admet que tout se passe comme s'il y avait dédoublement de la salicine, puis nouvelle formation, et enfin transport de glucose.

Dans les feuilles, dit-il, la salicine se dédouble la nuit : la pyrocatechine reste sur place, le glucose se transporte dans l'écorce où il forme de nouvelles quantités de salicine avec la pyrocatechine qui s'y trouve. C'est ce qui expliquerait les variations nocturnes. Dans le jour, la pyrocatechine, mise en liberté la nuit, se recombine aux produits d'assimilation des feuilles, pour produire le glucoside.

Dans l'écorce, la salicine serait dédoublée, et le glucose transformé ou envoyé dans les endroits où sa présence est nécessaire ; la pyrocatechine restant sur place. La néoformation de glucoside que l'on constate la nuit peut se produire dans la journée, mais ce processus est masqué par les phénomènes d'assimilation diurne qui sont beaucoup plus intenses.

La salicine serait donc, d'après l'auteur, *une substance de réserve transitoire, au même titre que l'amidon.*

Mais quels sont les agents qui effectuent ces transformations ? WEEVERS a isolé, des jeunes pousses du *Salix purpurea*, un suc qui, précipité par l'alcool, lui a donné un mélange de ferments, agissant sur la salicine, la saligénine, et la pyrocatechine.

On y trouverait un ferment dédoublant la salicine, la *salicase*, différant de l'émulsine en ce sens qu'il n'agit pas sur l'amygdaline.

Il y aurait également, à côté d'un peu de *catalase*, une *saligéninase* qui transformerait la saligénine en pyrocatechine, et une *pyrocatechinase* (<sup>1</sup>) (catécholase), qui oxyderait la pyrocatechine.

1. La pyrocatechinase n'est pas identique à la tyrosinase, parce qu'elle n'agit pas sur la tyrosine et ne colore pas en jaune d'or, puis en brun, le paracrésol ; elle donne, au contraire, avec ce dernier corps, un trouble laiteux devenant sale. Par contre, une solution de pyrocatechine, avec ce ferment, se colore en vert immédiatement, devient noire au bout de cinq minutes, avec formation d'un précipité. La tyrosinase ne colore la pyrocatechine qu'après plusieurs jours, et la solution est à peine trouble au bout de vingt-quatre heures. La pyrocatechinase agit moins bien sur l'hydroquinone, sans toutefois donner de quinhydrone, et encore moins rapidement sur la résorcine.

Cette pyrocatechinase se différencie de la peroxydiastase par son action sur le gayac, qui n'est pas coloré en bleu. Elle décompose bien l'eau oxygénée en H<sup>2</sup> et O<sup>2</sup>, mais se distingue de la catalase du malt, qui n'agit pas sur la saligénine, la pyrocatechine ou l'hydroquinone. (WEEVERS.)

Pour dédoubler la populine, il y aurait également un ferment, la *populase*, qui donnerait de l'acide benzoïque et de la salicine. Ce glucoside se dédoublerait ensuite comme nous venons de l'indiquer.

L'auteur a montré l'individualité de ces deux ferments par l'action de la chaleur. Si l'on chauffe à 85°, le mélange n'agit plus sur la saligénine ; en un mot, il n'y a plus de saligéninase ; mais il oxyde encore la pyrocatechine. La catécholase n'est détruite qu'à 100°. L'auteur n'a pas pu séparer la catécholase ou, tout au moins, annihiler son action. Cela eût été cependant un point très intéressant, parce qu'il aurait pu constater si la saligéninase donnait bien, en partant de la saligénine, de la pyrocatechine. Dans l'état actuel, lorsqu'on met la saligénine en présence du mélange de ferments, on ne trouve pas le terme intermédiaire pyrocatechine, qui est immédiatement oxydé.

Dans la plante, les choses se passent différemment, parce que la salicase, la saligéninase et la salicine sont dans les mêmes cellules, tandis que la catécholase serait dans d'autres éléments. La nécrobiose de la plante serait donc nécessaire, qui, mettant en contact les différents sucres cellulaires, provoquerait le dédoublement de la salicine, puis l'oxydation de la pyrocatechine et, par suite, la coloration noire des feuilles.

WEEVERS (\*) a étendu ses recherches à l'arbutine et à la populine ; nous n'entrerons plus dans les détails et nous nous contenterons simplement de rappeler les conclusions du travail.

L'arbutine, de même que la salicine, doit être considérée comme une substance de réserve localisée principalement dans les feuilles ; elle est consommée par la plante au printemps, au moment de la formation de nouvelles pousses.

La consommation est précédée d'une hydrolyse fermentaire : l'enzyme dédouble le glucoside en hydroquinone et glucose. L'hydroquinone reste emmagasinée dans les vieilles feuilles, ainsi que dans les parties jeunes, où elle reforme de l'arbutine, quand la plante commence à assimiler ce produit.

Une autre partie de l'hydroquinone est transformée en d'autres substances par une oxydation plus intense.

L'augmentation de l'hydroquinone et la diminution de l'arbutine sont proportionnelles à leurs poids moléculaires.

Lorsque l'assimilation commence, la quantité d'hydroquinone diminue rapidement, et celle de l'arbutine augmente. L'hydroquinone transforme alors le produit mobilisable, le glucose, en une substance de réserve : l'arbutine.

Les recherches de WEEVERS sur le Marron d'Inde sont moins intéressantes. L'auteur a bien étudié la variation des glucosides pendant la ger-

1. WEEVERS : Die physiologische Bedeutung einiger Glycoside. *Recueil des travaux botaniques des Pays-Bas*, 7, 61 p., 1910.

mination normale et la germination à l'obscurité; il a trouvé une diminution de ceux-ci pendant le développement de la graine.

Il en conclut naturellement qu'ils ont été utilisés pendant la germination et que ce sont des matériaux de réserve, au même titre que l'amidon.

Nous avons fait remarquer, et WEEVERS le reconnaît d'ailleurs, que l'esculine n'existe pas dans la graine du Marronnier; elle ne se trouve que dans les téguments. Or, WEEVERS a fait ses dosages sur la graine privée de téguments; ses résultats ne s'adressent donc pas à l'esculine. D'ailleurs, dès que la radicule a percé le tégument, l'esculine apparaît et WEEVERS la dose de la même façon qu'il évalue les glucosides inconnus de la graine non germée.

La composition du Marron d'Inde est encore peu connue: il y existe une grande quantité de saponine, et probablement un sucre particulier. Par sa méthode d'extraction (épuisement à l'alcool méthylique), WEEVERS ne sait pas s'il n'entraîne pas des matières sucrées, qu'il dosera ensuite comme glucoside. C'est pour cette raison que nous ne reproduirons pas son tableau d'analyse.

Ainsi donc, par ses recherches sur la salicine et l'arbutine, WEEVERS conclut très nettement en faveur du rôle alimentaire des glucosides. Pour lui, la catéchine, l'hydroquinone, ne seraient que des corps susceptibles de transformer un produit soluble, mobilisable, le glucose, en une substance de réserve, de repos: le glucoside.

Si la thèse de WEEVERS était vraie, il faudrait admettre la présence d'une quantité à peu près fixe de pyrocatechine dans toute la plante. Comment se forme la première quantité de ce phénol, dans la germination du *Salix*, puisque dans la feuille on fait dériver ce corps de la saligénine, c'est-à-dire de la salicine? Or, nous avons vu que la salicine n'existe pas dans la graine. Si l'on admet que la pyrocatechine peut se former en dehors de la décomposition de la salicine, il faut admettre qu'il s'en formera continuellement; par suite, il y aura augmentation de ce produit. Or, comme la teneur en pyrocatechine et salicine ne va pas sans cesse en augmentant, il faut bien que ces corps se détruisent.

Ne serait-il pas plus rationnel d'admettre que c'est le glucose qui s'unit au phénol, produit nuisible pour la plante, afin de le transformer en un produit inoffensif, mobilisable. Le glucoside se rendant dans l'écorce, s'y décomposerait; le glucose reprendrait son rôle, et le composé phénolique oxydé donnerait alors les matières colorantes de l'écorce.

Cette hypothèse peut très bien s'accorder avec les résultats de WEEVERS. Au lieu que ce soit le phénol qui fixe le glucose en vue d'en faire une substance de réserve, ce serait le glucose qui solubiliserait le phénol, pour l'entraîner dans un endroit où il ne pourrait plus nuire à la plante.

## RÔLE DES GLUCOSIDES

Nous pouvons maintenant tenter de déduire des résultats exposés la notion du rôle biologique des glucosides et de leurs produits de dédoublement.

Trois hypothèses fondamentales se présentent à l'esprit : les glucosides *protègent* la plante contre les parasites végétaux ou animaux ; les glucosides sont des *substances de réserve* que la plante utilise à certains moments ; les glucosides sont des *substances de déchet* éliminées du cycle des phénomènes nutritifs.

### I. — *Le Glucoside, substance de protection.*

Comme aux alcaloïdes, on a attribué aux glucosides un rôle de protection. En étudiant les alcaloïdes, nous avons montré comment cette hypothèse est injustifiée ; nous n'y reviendrons pas. Si les glucosides peuvent parfois protéger la plante contre les parasites, c'est là un rôle tout à fait occasionnel, tout à fait accessoire.

Bien plus, nous verrons tout à l'heure que la plante a intérêt à se protéger contre les substances phénoliques qui entrent dans la molécule glucosidique.

### II. — *Le Glucoside, substance alimentaire.*

On peut supposer que les glucosides sont mis en réserve pour être utilisés par la plante à certains moments de vie plus intense, nécessitant une nutrition plus abondante, à l'époque de la floraison, par exemple.

Ce rôle d'aliment peut être lui-même conçu de deux façons :

Ou bien, le glucoside constitue *dans son entier* un aliment possible pour la plante, et celle-ci assimilera, non seulement le sucre, mais la substance chimique qui lui est unie. Ou bien, la formation de glucoside a pour but de fixer momentanément un hydrate de carbone assimilable. La combinaison formée livrera à la plante, au moment voulu, après

hydrolyse, le sucre ainsi réservé, le sucre seul étant utilisé. Le glucoside serait, au point de vue physiologique, un « glyco-génique » d'une structure particulière, et dont une partie seulement est utilisable.

Cette dernière hypothèse est admise par PFEFFER. Pour lui, la combinaison des dérivés du benzène avec les hydrates de carbone servirait à la formation de substances difficilement diosmostiques, par conséquent, aptes, à s'accumuler dans les cellules. Lors de la décomposition et de l'utilisation du glucose, le corps phénolique resterait intact pour servir plus tard à la formation d'une nouvelle quantité de glucoside. En un mot, d'après PFEFFER, la formation de glucoside aurait pour but de fixer le glucose sous une forme moins soluble et de donner des « corps aplastiques ».

Cette opinion a été soutenue par WEEVERS, et toutes ses expériences tendent à démontrer le bien-fondé de l'hypothèse de PFEFFER (1).

BOURQUELOT et VINTILESCO (2) considèrent également les glucosides comme des substances de réserve. C'est également l'avis de RUSSELL (3) qui, dans des recherches microchimiques, a pu constater que, pendant l'hiver, la populine, la syringine, la fraxine, la dulcamarine s'accumulent principalement au niveau des nœuds, à la base des bourgeons, ou dans les parties souterraines, chez les plantes dont la vie aérienne est éphémère.

\* \*

**Valeur nutritive des glucosides.** — La théorie du glucoside-aliment trouverait un argument important si l'on pouvait démontrer l'utilisation des glucosides par les moisissures cultivées sur des solutions nutritives. Leur utilisation, dans ces conditions, établirait en effet la valeur alimentaire réelle de ces substances. Divers auteurs ont fait à ce sujet des expériences dont on peut déduire, avec PURIEWITSCH (4) et BRÜNSTEIN, que les glucosides sont de médiocres aliments.

PURIEWITSCH (1898) est le premier qui ait fait des expériences en vue de déterminer le rôle nutritif des glucosides. Il a étudié le développement de l'*Aspergillus niger*, du *Penicillium glaucum* et de l'*Aspergillus glaucus* sur les solutions de salicine, hélicine, arbutine, coniférine, esculine, phloridzine, hespéridine et amygdaline. Sa technique était la suivante : il préparait des cultures d'*Aspergillus niger* ou des autres champignons sur liquide de RAULIN, jusqu'à obtention d'un voile blanc

1. PFEFFER : Physiologie végétale, trad. FRIEDEL, 1, 1906, 504.
2. BOURQUELOT et VINTILESCO : *Loc. cit.*
3. RUSSELL : Sur le siège de quelques principes actifs des végétaux pendant le repos hivernal. *Rev. de Bot.*, 15, 160-165, 1903.
4. PURIEWITSCH : Ueber die Spaltung der Glycoside durch die Schimmelpilze. *Ber. d. d. Bot. Gesell.*, 16, 368-377, 1898.

assez fort et recouvrant toute la surface du liquide. A ce moment, il remplaçait plusieurs fois le liquide nutritif par de l'eau distillée, puis finalement par une solution du glucoside à étudier.

Si l'on opère avec la salicine, on constate que ce corps est dédoublé en glucose et saligénine. La saligénine est facile à caractériser par la coloration bleue qu'elle donne avec le perchlorure de fer; mais on ne retrouve plus le glucose qui a disparu, utilisé par la plante. La saligénine s'accumule dans la solution. Toute la salicine mise en œuvre est hydrolysée par le mycélium et la rapidité de la décomposition dépend surtout de la quantité de glucoside, de la force du mycélium et de la température à laquelle se fait la culture.

L'hélicine, l'arbutine, la coniférine, l'esculine, la phloridzine, l'hespéridine sont également décomposées par l'*Aspergillus niger* et les autres champignons et le glucose mis en liberté sert d'aliment à la moisissure.

Toutefois, PURIEWITSCH constate que, si le mycélium augmente de poids lorsqu'il végète à la surface de la plupart des solutions glucosidiques, il n'en est pas de même avec l'hélicine. Dans ce cas particulier, le mycélium ne subit aucune modification: il garde sa couleur blanche, n'augmente pas de poids, ne forme pas de spores, perd sa turgescence, devient mou, se fane, puis meurt au bout d'un temps assez court. L'aldéhyde salicylique formé est donc un poison pour le champignon.

L'amygdaline se dédouble sans donner d'acide cyanhydrique; ce fait avait d'ailleurs déjà été signalé par PFEFFER.

PURIEWITSCH admet que la décomposition des glucosides par les champignons donne du glucose, immédiatement assimilé, et un dérivé à noyau benzénique. Le sort de ce composé, le plus souvent à fonction phénolique, est variable. Dans certains cas, il reste dans la solution sans subir aucune transformation; dans d'autres, il serait, d'après PURIEWITSCH, assimilé par le mycélium, mais, toutefois, après la décomposition complète du glucoside et l'assimilation totale du glucose; de plus, cette assimilation serait lente. En un mot, le champignon prendrait tout d'abord le principe le plus nutritif, l'hydrate de carbone, et n'attaquerait l'autre partie de la molécule du glucoside qu'en l'absence d'autres aliments (et encore il n'en utiliserait que fort peu, si toutefois les expériences de PURIEWITSCH peuvent prouver cette assimilation).

Les glucosides, d'après PURIEWITSCH, ne seraient donc jamais que des aliments de second ordre et le champignon ne les décompose que s'il n'a pas à sa disposition d'autres substances plus nutritives.

C'est ainsi que l'auteur reconnaît que la salicine est inaltérée si la culture contient une quantité six fois plus grande de dextrose, douze fois plus grande de saccharose et quatorze à seize fois plus grande d'amidon.

L'hélicine n'est pas décomposée dans une solution renfermant une quantité sept fois plus grande de dextrose, onze à treize fois plus grande de saccharose et quinze à seize fois plus grande d'amidon. Il en est de même pour l'arbutine.

On ne peut donc pas dire que le glucoside soit une substance nutritive de premier choix.

Les glucosides peuvent également servir au développement de la spore. A des volumes égaux de solution nutritive minérale de RAULIN (sans sucre, ni acide tartrique), PURIEWITSCH ajoute un même poids de différents glucosides et ensemence chaque liquide avec une quantité minime et égale de spores d'*Aspergillus niger* V. Th.

Après trois jours à 30°, on pèse le mycélium formé et l'on trouve :

SOLUTIONS	POIDS du mycélium obtenu	FORMULE DU GLUCOSIDE	POIDS moléculaire	QUANTITÉ de glucose fourni par 1 gr. de glucoside
Saccharose . . . . .	0,859	»	»	»
Amygdaline . . . . .	0,820	$C^{20}H^{27}AzO^{11}, 3H^2O$	511	0,704
Hélicine (1). . . . .	0,770	$C^{13}H^{15}O^7, H^2O$	301	0,598
Arbutine. . . . .	0,762	$C^{12}H^{16}O^7, 1/2H^2O$	281	0,640
Salicine . . . . .	0,721	$C^{12}H^{16}O^7$ anhyd.	286	0,629
Coniférine. . . . .	0,612	$C^{16}H^{22}O^8, 2H^2O$	342	0,526

1. L'action retardatrice du produit de dédoublement de l'hélicine est ici manifeste, et n'a pas été suffisamment mise en relief par PURIEWITSCH. (A. G.)

On voit donc que, dans cette série de glucosides, la valeur nutritive est en relation avec le poids moléculaire et, par conséquent, avec la quantité de glucose formé. Comme dans les expériences on a mis les mêmes poids de glucoside, il est évident que c'est dans la solution qui renferme le glucoside dont le poids moléculaire est le plus élevé, que se formera le moins de glucose. C'est également dans cette solution que nous trouvons le poids le plus faible de mycélium. Le développement du champignon semble donc bien être sous la dépendance de l'hydrate de carbone fourni par le dédoublement du glucoside.

BRUNSTEIN (1) ne partage pas cette opinion et croit plutôt que le développement du mycélium est directement influencé par la nature du pro-

1. A. BRUNSTEIN : Ueber Spaltungen von Glycosiden durch Schimmelpilze. *Beih. z. bot. Centralbl.*, 10, 1-50, 1901.

duit de dédoublement. Ses expériences ont été faites avec *Aspergillus niger* V. Tgh., *A. Orizæ* Cohn, *A. Wentii* Weh., *A. glaucus* Link, *Penicillium glaucum* Link, *Botrytis cinerea* Pers., *Monilia candida* Bon., *Mucor Mucedo* L., *M. spinosus* V. Tgh., *M. stolonifer* Cohn, *Thamnidium elegans* Link, *Phycomyces nitens* Kütz, *Amylomyces Rouxii* Calm., *Dematium pullulans* de Bary, sur l'hélicine, la salicine, l'arbutine, l'amygdaline, la coniférine, le myronate de potasse, la saponine et la glycyrrhizine.

La valeur nutritive des glucosides est très inégale et n'est pas fonction du poids moléculaire; c'est ainsi que des cultures d'*A. Wentii*, faites dans les mêmes conditions sur des liquides renfermant les différents glucosides, ont donné les poids de mycélium suivants, après cinq jours de culture :

Sur l'eau distillée. . . . .	1,00
Sur la solution d'arbutine. . . . .	0,95
Sur — d'hélicine . . . . .	1,60
Sur — de salicine. . . . .	2,00
Sur — d'amygdaline. . . . .	2,9
Sur — de myronate de potasse. . . . .	2,9
Sur — de coniférine. . . . .	3,2
Sur le liquide de Raulin . . . . .	6,0

Ces résultats nous montrent donc que le glucoside est loin d'avoir une grande valeur nutritive. L'arbutine, l'hélicine, la salicine sont de mauvais aliments, parce que les produits de dédoublement sont nocifs pour le champignon, diminuent sa croissance et, parfois même, le tuent si les produits de décomposition sont en quantité suffisante. Il est bien évident que, suivant l'état du développement du mycélium, celui-ci réagira d'autant mieux. Ce n'est donc pas avec des mycéliums bien développés et forts qu'il faut étudier les différentes phases de la décomposition des glucosides, mais par la culture de mycéliums faibles ou par le développement des spores.

Dans toutes ces observations, BRÜNSTEIN a constaté, pour tous les champignons et glucosides étudiés, une même façon, pour le champignon, d'utiliser les produits de dédoublement. Suivant la quantité du mycélium, une quantité plus ou moins grande de glucoside est décomposée en glucose et dérivé phénolique. Le glucose est consommé si le mycélium est resté sain. Si les produits de dédoublement sont nocifs, une partie seulement peut être utilisée et même, dans certains cas, ils ne le sont pas du tout. Ainsi, en présence de l'arbutine, le glucose n'est pas utilisé, et il l'est très facilement avec l'hélicine et la salicine.

Contrairement à l'opinion de PURIEWITSCH, qui admettait que certains composés phénoliques pouvaient être assimilés, BRÜNSTEIN soutient que, dans toutes les expériences qu'il a faites, ces composés n'ont jamais été utilisés; toutefois, dans certains cas, ils peuvent subir des modifications.

ultérieures, par oxydation, sous l'influence du mycélium vivant. C'est ainsi que l'*Aspergillus Oryzae* Cohn dédouble la salicine en alcool salicylique et oxyde finalement ce dernier en donnant l'aldéhyde, puis l'acide salicylique.

HÉRISSEY et LEBAS<sup>(1)</sup> ont répété les expériences précédentes sur l'aucubine. Dans ces expériences, analogues à celles de PURIEWITSCH, ils constatent que l'aucubine est dédoublée par l'*Aspergillus niger* et que celui-ci utilise le glucose; il y a, en même temps, coloration brune de la solution, par suite de la formation d'*aucubigénine*, corps très instable, qui s'oxyde très rapidement.

Lorsqu'on ensemence, avec des spores d'*Aspergillus*, du liquide de RAULIN dans lequel on a remplacé le sucre par une quantité équivalente d'aucubine, on constate que le développement se fait aussi rapidement que sur le liquide de RAULIN sucré. Cela tient à ce que l'acide tartrique de la solution décompose l'aucubine, glucoside facilement dédoublable par les acides, et met immédiatement à la disposition du champignon le glucose nécessaire à son développement.

Lorsque les auteurs ont opéré avec un liquide de RAULIN neutre, dont la formule a été donnée par LUTZ et GUÉGUEN<sup>(2)</sup>, ils ont constaté que le développement du champignon était très lent au début, pour devenir peu à peu plus rapide, et aboutir finalement à des cultures *abondantes et luxuriantes*.

Seule, la dernière partie de cette expérience est particulièrement intéressante, car elle montre que l'aucubine *ne peut être utilisée directement* pour la nutrition de la plante. Il faut, au préalable, qu'elle soit hydrolysée pour servir d'aliment à l'*Aspergillus*. Cette hydrolyse, en milieu neutre, ne se fait que lorsqu'il y a déjà une quantité de tissu suffisante pour sécréter l'émulsine nécessaire.

L'observation des auteurs ne nous renseigne pas sur le rôle de l'aucubigénine et de son produit d'altération. Dans des expériences analogues faites à partir de la spore, sur des glucosides différents de l'aucubine, BRÜNSTEIN (non cité par les auteurs) a vu le développement s'arrêter au bout d'un certain temps, à cause de l'action nuisible du produit de dédoublement.

De toutes les expériences précédentes, il résulte très clairement que, si les glucosides peuvent servir d'aliments aux champignons, leur valeur nutritive est toutefois très restreinte. Le glucose est la seule partie

1. H. HÉRISSEY et LEBAS : Utilisation de l'aucubine par l'*Aspergillus niger*. V. Tgh. Journ. Pharm. Chim. (7 s.), 3, 521-525, 1911.

2. LUTZ et GUÉGUEN : De l'unification des méthodes de culture pour la détermination des mucédinées et des levures. Bull. Sc. Pharm., 4, 475, 1900.

utilisable, et cette utilisation nécessite le dédoublement préalable du glucoside par les enzymes sécrétés par le champignon. Dans aucun cas, le glucoside n'est directement assimilé.

Quant à la seconde partie de la molécule glucosidique, de nature phénolique, elle n'est jamais utilisée (BRÜNSTEIN) ou, en tout cas, très lentement (PURIEWITSCH). Bien plus, elle est parfois nocive pour le mycélium, et d'autant plus que celui-ci est moins développé.

Puisque le glucoside n'est aliment que par sa partie hydrocarbonée, admettra-t-on, en dernier ressort, que précisément sa formation n'a d'autre but que de mettre en réserve l'hydrate de carbone en vue d'une utilisation ultérieure et que, libéré, le noyau phénolique se transformera bien vite et de nouveau en glucoside ? On reconnaîtra que les réserves sucrées ainsi obtenues sont bien peu abondantes et ne sauraient être d'une grande utilité au végétal. Tout au plus, pourrait-on admettre une mise en réserve de peu de durée en vue d'une livraison à court terme : accumulation au cours de la journée, par exemple, en vue d'une utilisation nocturne. Et ceci ne serait encore vraisemblable que si, à côté du glucoside, il n'existait, pour ces heures où l'assimilation chlorophyllienne est suspendue, aucune parcelle de sucre ou d'amidon plus rapidement utilisable.

### III. — *Le glucoside, substance de déchet.*

Personnellement, nous pensons que les glucosides sont en général des substances de déchet.

TUNMANN, dans ses recherches sur l'héspéridine, adopte une manière de voir analogue, et dit que la plante se débarrasse de sa phloroglucine sous forme d'héspéridine.

Dans nos recherches sur la localisation de l'esculine, nous avons fait remarquer que le glucoside se trouve en abondance dans la partie la plus externe des tiges âgées et se trouve éliminé par les rhytidomes successifs qui constituent alors de véritables moyens d'excrétion de la plante. En nous basant sur ce fait et sur ce que l'esculine apparaît dans la germination de la graine, — alors que cette dernière ne renferme du glucoside que dans ses téguments — nous avons admis que ce glucoside ne constituait pas une substance de réserve, mais plutôt un déchet de l'activité cellulaire. Nous avons étendu cette hypothèse aux autres glucosides étudiés par nous. Nous ne croyons pas devoir changer cette façon de voir.

Les glucosides, et principalement les glucosides à noyaux phénoliques complexes, sont des produits chez lesquels le glucose ou les hydrates de carbone qui se combinent au dérivé benzénique jouent le rôle de *solubilisateurs* de ces corps; ils facilitent la mobilisation de ces composés

généants, et quelquefois même nocifs pour la cellule, et deviennent ainsi les *convoyeurs* de ces résidus. Ils les transportent vers les parties les plus externes où ils s'oxydent après dédoublement ; les composés aromatiques libérés forment ainsi, par oxydation *ultérieure*, les pigments colorés des végétaux, les composés phlobaphéniques, qui s'éliminent périodiquement avec les rhytidomes ou restent inutilisables dans un tissu mort. Le glucose provenant de la décomposition de ces glucosides peut alors rentrer dans le cycle de la nutrition, mais on ne peut voir là un rôle de substance de réserve proprement dit, mais seulement une utilisation *secondaire*.

Cette hypothèse n'a rien d'in vraisemblable. Elle n'est pas en antagonisme avec les faits observés dans les recherches de localisation ou de nutrition.

Il est bien évident, par exemple, que la répartition des glucosides dans l'épiderme ne peut faire attribuer à ce dernier un caractère de tissu de réserve. D'autre part, l'élimination périodique d'une grande quantité de glucoside, la formation de celui-ci aux dépens des matériaux de la graine, font plutôt pencher en faveur d'un produit de rebut. Les expériences de PURIEWITSCH, BRUNSTEIN, qui renseignent sur la valeur nutritive de ces corps, nous ont montré que la partie phénolique est complètement inassimilable et parfois nocive. Là, encore, notre hypothèse trouve un point d'appui sérieux.

Les expériences de migration ne la contredisent pas non plus. L'augmentation d'un glucoside pendant le cours de la végétation peut tout aussi bien s'interpréter en faveur du *glucoside-déchet* que du *glucoside-aliment*. La diminution que l'on constate à certaines époques de la végétation ne prouve pas que le glucoside a été assimilé ; elle montre tout simplement qu'il a disparu. Il a pu émigrer vers les parties externes de l'organe où il s'est décomposé en produit phénolique oxydable et en glucose réassimilable.

De cette façon, les glucosides fourniraient *secondairement* les matières colorantes des feuilles, les produits résineux, les essences, les phlobaphènes, etc.

C'est ainsi que BOURQUELOT et M<sup>lle</sup> FICHTENHOLZ (1) ont constaté que les feuilles de Poirier noircissent à l'époque de leur chute, par suite de l'oxydation de l'hydroquinone provenant de l'arbutine.

Une hypothèse un peu analogue à la nôtre avait déjà été émise par différents auteurs, à propos de la formation des pigments colorés des

1. EM. BOURQUELOT et M<sup>lle</sup> FICHTENHOLZ : Nouvelles recherches sur le glucoside des feuilles de Poirier ; son rôle dans la production des teintes automnales de ces organes. *Journ. Pharm. Chim* (7<sup>e</sup> s.), 3, 1-13, 1911.

plantes que l'on désigne génériquement sous le nom d'*anthocyane*, bien que ces composés soient très différents les uns des autres<sup>(1)</sup>.

OVERTON<sup>(2)</sup>, qui avait constaté les analogies existant entre les réactions des tanins et celles des pigments rouges, avait considéré l'anthocyane comme une combinaison glucosidique dont le radical devait être voisin des tanins. Cette nature glucosidique des pigments rouges a été démontrée, il y a quelques années, par LÉOPOLD VON PORTHEIM et EM. SCHOLL<sup>(3)</sup>. C'est également l'opinion de PICK<sup>(4)</sup>, de MIRANDE<sup>(5)</sup>. Ce dernier auteur a vu que la coloration produite à la suite de lésions effectuées par les insectes était due à l'accumulation de tanin, de glucose, et à la présence d'une oxydase.

L'étude de ces pigments a été reprise, dans ces dernières années, par R. COMBES<sup>(6)</sup> qui a surtout recherché quelles conditions déterminent la formation de cette anthocyane. Pour cet auteur, tous les pigments anthocyaniques ne peuvent être considérés comme provenant d'une simple transformation des glucosides existant dans les tissus avant la pigmentation. « Dans certaines conditions biologiques, le chimisme cellulaire aboutit à la formation de composés phénoliques, ou incolores, ou faiblement teintés, qui ne prennent, par conséquent, aucune part à la coloration des tissus dans lesquels ils sont localisés; mais lorsque, dans ces tissus, des composés sucrés solubles s'accumulent en quantité notable, les processus d'oxydation deviennent plus actifs, et les phénomènes de synthèse, qui ont lieu dans ces régions, aboutissent à la formation de composés phénoliques un peu différents de ceux qui se constituent dans les conditions précédentes; ces nouveaux composés phénoliques présentent, entre autres caractères, une vive coloration rouge, violette ou bleue. »

En un mot, les pigments anthocyaniques se constitueraient de toutes pièces sous l'influence de l'augmentation des substances hydrocarbonées et ne résulteraient pas de l'oxydation des corps préexistants.

Une semblable opinion avait déjà été émise par différents savants.

1. Cette hypothèse est actuellement soutenue par KEEBLE, ARMSTRONG et NEILSON JONES, pour ce qui concerne la matière colorante des pétales.

F. KEEBLE, E. F. ARMSTRONG et W. NEILSON JONES : The Formation of the Anthocyan Pigments of Plants. *Proc. roy. Soc. London*, 87 (sér. B), 113-131, 1913.

2. OVERTON : Beobacht. und Vers. über Auftreten im rothem Zellsaft bei Pflanzen. *Jahr. f. wiss. Bot.*, 33, 171, 1899.

3. LÉOPOLD VON PORTHEIM et EM. SCHOLL : Untersuchungen über die Bildung und der Chemismus von Antokyanen. *Ber. d. d. Bot. Gesell.*, 26(1), 480, 1908.

4. PICK : Ueber die Bedeutung des rothen Farbstoffes bei den Phanerogamen und die Beziehungen desselben zur Stärkewanderung. *Bot. Centralbl.*, 16, 281, 314, 343, 375, 1883.

5. M. MIRANDE : Sur l'origine de l'anthocyanine déduite de l'observation de quelques insectes parasites des feuilles. *C. R. Ac. Sc.*, 145, 1300, 1907.

6. R. COMBES : Recherches sur la formation des pigments anthocyaniques. *C. R. Ac. Sc.* 153, 886-889, 1911; Rapports entre les composés hydrocarbonés et la formation de l'anthocyane. *Ann. Sc. Nat. Bot.* (3<sup>e</sup> s.), 9, 275-303, 1909

OVERTON, en faisant vivre des plantes aquatiques : *Trapa natans* L., *Hydrocharis Morsus-ranæ* L., *Elodea canadensis* Michx., à la surface de solutions sucrées, a vu s'y développer des pigments, tandis que des plantes cultivées dans l'eau pure ou sur des solutions salines (chlorure de sodium, azotate de potassium, glycérine), ne se coloraient pas.

MOLLIARD (1) a pu constater des faits analogues dans les cultures de radis. En cultivant ceux-ci dans des liquides sucrés, il constata que les radis situés à peu de distance de la surface du liquide développaient de l'anthocyane, tandis que ceux qui étaient immergés ne présentaient aucune trace de pigmentation.

PALLADINE (2) a obtenu des résultats comparables en plaçant des feuilles de *Rumex Patientia* L. dans des solutions de saccharose à 20 p. 100, à la lumière et à l'obscurité.

Examinons attentivement les expériences qui ont permis à COMBES de tirer ses conclusions générales. Ces recherches ont porté sur *Ampelopsis hederacea* DC., *Rosa canina* L., *Sorbus latifolia* Pers., *Mahonia Aquifolium* Nutt., *Spiræa paniculata* Willd., chez lesquels il a dosé les sucres, les glucosides et les hydrates de carbone insolubles, soit après avoir produit leur rougissement par l'action de la lumière, de décortications annulaires, soit lors du rougissement automnal.

L'analyse porte chaque fois sur 100 grammes de feuilles rouges et 100 grammes de feuilles vertes, récoltées à la même heure, si possible le même jour, et traitées aussitôt après la cueillette.

Les feuilles sont divisées en menus fragments et jetées dans un ballon renfermant 500 cm<sup>3</sup> d'alcool à 95° bouillant, additionné de 1 gr. de carbonate de chaux.

Après ce traitement, les fragments de feuilles sont séparés du liquide alcoolique; ce dernier est distillé dans le vide à basse température, et le résidu, réuni aux feuilles dont il provient, est desséché dans le vide en présence d'acide sulfurique pendant deux jours; on continue la dessiccation dans une étuve à 40°; on termine l'opération par une dessiccation à 110°. On pèse et on obtient ainsi (après avoir retranché le poids du carbonate de chaux) la teneur en poids sec de 100 grammes de feuilles.

Le produit sec pulvérisé est épuisé à l'éther anhydre, dans le but d'éliminer les substances grasses qui gêneraient les épaissements ultérieurs. Le liquide éthéré est distillé dans le vide (?) et, le résidu, pouvant contenir certains glucosides solubles dans l'éther, est conservé pour être ajouté au liquide alcoolique, obtenu dans la suite et renfermant les composés glucosidiques. On fait alors subir à la matière pulvérulente lavée à l'éther les épaissements sui-

1. MOLLIARD : Action morphogénique de quelques substances organiques sur les végétaux supérieurs. *Rev. gén. Bot.*, **19**, 340, 1907; Production expérimentale de tubercules blancs et de tubercules noirs à partir des graines de Radis rose. *C. R. Ac. Sc.*, **148**, 573, 1909.

2. W. PALLADINE : Ueber die Bildung der Atmungschromogene in den Pflanzen. *Ber. d. d. bot. Gesell.*, **26**, 389, 1908.

vants, de façon à séparer les sucres, les glucosides et les hydrates de carbone insolubles.

1° La poudre est traitée à froid par 500 cm<sup>3</sup> d'alcool à 95°; on laisse en contact trois jours en agitant fréquemment. L'alcool est ensuite décanté et le résidu est repris une seconde fois, puis une troisième fois de la même manière. Les liquides alcooliques sont réunis, filtrés, évaporés dans le vide, au bain-marie, à basse température jusqu'à un volume de 70 cm<sup>3</sup> que l'on amène à 100 cm<sup>3</sup> par dilution avec de l'eau thymolée<sup>1</sup>.

D'après COMBES, ce traitement permet d'isoler la totalité des sucres (réducteurs et non réducteurs) et la plus grande partie des glucosides. Voici maintenant comment il les dose :

On évalue ensemble les sucres réducteurs et non réducteurs en dédoublant ces derniers au moyen de l'invertine. Les 100 cm<sup>3</sup> de solution sont donc placés à l'étuve avec 1 gr. d'invertine. Au bout de quatre jours on fait deux parts de 50 cm<sup>3</sup>. On défèque l'une au réactif de Courtonne et on y dose les sucres par la méthode de G. BERTRAND. On exprime les résultats en glucose. Les autres 50 cm<sup>3</sup> sont hydrolysés par 2 cm<sup>3</sup> d'acide sulfurique pur par chauffage à l'autoclave à 120° pendant une heure. Dans ces conditions, dit l'auteur, les composés glucosidiques sont hydrolysés. La liqueur est alors neutralisée par la soude, ramenée à un volume de 100 cm<sup>3</sup>, et on y dose les sucres réducteurs comme précédemment. L'augmentation constatée par rapport au premier dosage correspond aux sucres (exprimés en glucose) des glucosides.

2° « La plupart des glucosides sont solubles dans l'éther (?) ou dans l'alcool; les épuisements successifs par ces deux solvants ont donc enlevé la totalité de ces corps. Cependant, certains glucosides sont plus solubles dans l'eau que dans l'alcool et une partie de ces derniers a pu échapper aux précédents épuisements. Le traitement à l'eau permet de les isoler » (p. 292).

« Le résidu du traitement des feuilles par l'alcool est mis à macérer dans 500 cm<sup>3</sup> eau distillée. On laisse en contact deux jours et on répète deux fois cet épuisement. On filtre. Le résidu resté sur le filtre servira pour le dosage des hydrates de carbone insolubles.

Le liquide aqueux est évaporé à 50 cm<sup>3</sup>; il renferme, à côté des dextrines, les traces de glucosides qui ont échappé aux épuisements à l'éther et à l'alcool.

On y ajoute 5 cm<sup>3</sup> de réactif de Courtonne. « Le précipité renferme, à l'état de combinaisons plombiques, les glucosides précipitables par l'acétate neutre de plomb; le filtrat, qui contient les dextrines, est conservé pour le dosage de ces corps. En réalité, il peut encore exister des traces de glucosides dans le liquide filtré, car certains de ces composés ne précipitent pas par l'acétate de plomb; ils seront donc dédoublés en même temps que les dextrines.

Le précipité plombique, lavé à l'eau distillée, est mis en suspension dans 50 cm<sup>3</sup> d'eau additionnée de 2 gr. d'acide sulfurique pur et maintenue à l'autoclave à 120° pendant une heure pour opérer l'hydrolyse. La liqueur est neutralisée, étendue à 100 cm<sup>3</sup> et on dose les sucres réducteurs par la méthode précédemment indiquée. Le chiffre (exprimé en glucose), dû aux glucosides solubles dans l'eau, est ajouté à celui des glucosides solubles dans l'alcool.

La solution aqueuse qui renferme les dextrines est hydrolysée dans les mêmes conditions. On y dose les sucres réducteurs après neutralisation de la solution.

1. C'est à cette solution que l'on ajoute le résidu du lavage à l'éther.

3° Le dosage des hydrates de carbone insolubles et facilement hydrolysables se fait de la façon suivante :

La poudre restée sur le filtre après épuisement par l'eau est traitée par 250 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique à 10 p. 100 à l'autoclave, à 115°, pendant une heure. On filtre et on répète la même opération sur le résidu. Les liqueurs chlorhydriques réunies et neutralisées par la soude sont dosées comme précédemment.

Tous les chiffres des dosages précédents sont ramenés à 100 gr. de feuilles sèches. Reproduisons, à titre d'exemple, le tableau de COMBES concernant trois feuilles récoltées à l'époque du rougissement automnal :

	HYDRATES DE CARBONE solubles			HYDRATES de carbone insolubles	HYDRATES de carbone totaux
	sucres	dex-trines	gluco-sides		
<i>Rosa canina L.</i>					
Feuilles vertes. . . . .	2,42	1,30	8,22	9,72	21,66
— rouges . . . . .	2,64	1,23	8,24	5,33	17,44
<i>Sorbus latifolia Pers.</i>					
Feuilles vertes. . . . .	0,71	1,15	2,20	11,99	16,05
— rouges . . . . .	0,80	1,07	2,52	1,20	5,59
<i>Mahonia Aquifolium Nutt.</i>					
Feuilles vertes. . . . .	0,57	0,80	3,41	2,38	7,16
— rouges . . . . .	1,30	0,60	4,30	8,78	14,98

COMBES fait remarquer que la quantité de glucosides et de sucres est plus grande dans les feuilles rouges que dans les feuilles vertes, tandis que pour la teneur en dextrine c'est l'inverse que l'on constate. Il constate également que les feuilles caduques se comportent autrement que les feuilles persistantes. La proportion des hydrates de carbone insolubles diminue dans le rougissement des feuilles caduques, et augmente dans celui des feuilles persistantes.

Remarquons que, pour les deux premières plantes, les résultats des dosages des hydrates de carbone solubles ne sont guère différents et, qu'en réalité, pour les trois plantes, c'est surtout la variation des hydrates de carbone insolubles qui imprime au phénomène son orientation.

Il en est de même pour la production d'anthocyane chez *Ampelopsis hederacea* DC., sous l'action de la lumière; on y trouve, d'après les chiffres de COMBES, un total de 5,95 p. 100 d'hydrates de carbone solubles dans les feuilles vertes, et 5,63 p. 100 pour les feuilles rouges.

Les résultats obtenus avec les feuilles de *Spiræa paniculata* Willd., chez

lesquelles on produit le rougissement au moyen de décortications annulaires, sont plus marqués; il ne faut pas trop s'en étonner, puisque les feuilles rouges sont prélevées sur des individus ayant subi une annélation, et les feuilles vertes sur des individus normaux.

On peut, sans crainte, réunir les chiffres des hydrates de carbone solubles pour les opposer à celui des hydrates de carbone insolubles, car la technique employée par COMBES pour effectuer la séparation des sucres, glucoses et dextrines est des plus critiquables.

Tout d'abord, l'auteur admet que tous les sucres ont été dissous dans l'alcool à 95° employé à la dose de 1.500 cm<sup>3</sup>. Cela n'est pas, car le sucre le plus répandu dans les végétaux, le saccharose, est à peine soluble dans l'alcool à 95° (1). La proportion qui peut se dissoudre dans les conditions de l'expérience est d'environ 1 gramme; or, si l'on consulte le travail de V. HARLAY (2) sur la présence du saccharose dans les végétaux, on peut voir que les plantes renferment souvent plus de 1 gramme de saccharose pour 100 grammes de tissus frais. Le liquide alcoolique pourra ne pas renfermer tous les sucres; par contre, il contiendra tous les glucosides, parce qu'à part de très rares exceptions, les glucosides sont tous solubles dans cette proportion d'alcool. COMBES prétend dédoubler les sucres non réducteurs au moyen de l'invertine, mais ce ferment n'agit que sur quelques-uns. Il est inactif vis-à-vis du maltose, lactose, tréhalose, mélézitose, touranose. Il agit bien sur certains trioses (3) pour leur enlever une molécule de lévulose, mais il laisse une molécule d'un biose qui peut très bien n'être pas réducteur. En tout cas, ces sucres non dédoublés par l'invertine le seront au contraire par l'acide sulfurique, lors de l'hydrolyse des glucosides, et seront par conséquent comptés parmi ces derniers.

De fait, si nous considérons le tableau précédent nous voyons que la quantité de glucose provenant des glucosides dans *Rosa canina* L. atteint 8,20 p. 100, ce qui ferait (en admettant que le poids moléculaire de la seconde partie du glucoside soit voisin de celui du glucose) 15 grammes de glucoside pour 100 grammes de produit sec, soit 150 grammes par kilogramme. Incontestablement il n'en est pas ainsi; s'il y a une aussi forte proportion de prétendu glucoside et si le chiffre est aussi élevé,

1. Nous avons fait une expérience avec du saccharose pulvérisé que nous avons laissé en contact avec 500 cm<sup>3</sup> d'alcool à 95° pendant trois jours. On a filtré et fait, dans les mêmes conditions, deux nouvelles macérations en remuant fréquemment le mélange. Il s'est dissous de cette façon 1 gr. 10 de saccharose, soit 0,072 p. 100.

2. V. HARLAY : Le saccharose dans les végétaux. *Th. Doct. Un. Pharm.*, Paris, 1900.

3. Le *Raffinose* se dédouble par action de l'invertine en *lévulose* et *mélibiose* (glucose + galactose). Le *Gentianose* se dédouble par action de l'invertine en *lévulose* et *gentiobiose* (glucose + glucose). Le *Stachyose* se dédouble par action de l'invertine en *lévulose* + *mannitriose* (glucose + galactose + galactose).

cela tient à ce que des sucres n'ont pas été dédoublés par l'invertine, et l'ont été plus tard par l'acide.

La teneur en dextrine peut également être faussée par les sucres qui ne se sont pas entièrement dissous dans les 1.500 cm<sup>3</sup> d'alcool, et qui sont ensuite entrés en dissolution dans l'eau.

Les glucosides solubles dans l'eau sont très probablement des saponoides, car nous avons dit que presque tous les glucosides avaient pu se dissoudre dans l'alcool. D'ailleurs, le fait de précipiter par la liqueur de COURTONNE semble le démontrer, car la plupart des glucosides ne précipitent pas par l'acétate neutre de plomb.

On conçoit, après cette critique, que nous ne puissions accepter la conclusion suivante de COMBES (1). Puisque la formation de l'anthocyane, « composé de nature glucosidique, est corrélative d'une augmentation des glucosides totaux, il paraît logique de supposer que cette substance ne se forme pas aux dépens de glucosides préexistants, mais qu'elle se constitue plutôt de toutes pièces; c'est à sa formation que doit être rapportée, au moins en partie, l'augmentation qui se produit dans l'ensemble des glucosides ».

Attendons, pour adopter cette manière de voir, des expériences plus précises sur ce point.

Il se peut que la production de matières colorantes soit corrélative d'une augmentation d'hydrates de carbone, mais cela ne modifie en rien notre hypothèse émise sur le processus de ce phénomène. Ces colorations sont le fait du dédoublement de substances glucosidiques et d'une oxydation secondaire du noyau phénolique mis en liberté (2).

Ce dédoublement du glucoside peut se faire sous l'action d'une lumière trop intense (photolyse), du froid (cryolyse), d'un traumatisme, d'une

1. COMBES a constaté que l'apparition d'anthocyane était corrélative d'une accumulation d'oxygène dans les tissus.

R. COMBES : Les échanges gazeux de feuilles pendant la formation et la destruction des pigments anthocyaniques. *Rev. gén. Bot.*, 22, 177-212, 1910.

2. Dans une note toute récente, R. COMBES prétend que l'anthocyane des feuilles rouges d'*Ampelopsis* prend naissance par réduction d'un composé existant déjà dans les feuilles vertes, et croit que la théorie qui considère la pigmentation comme un phénomène d'oxydation ne peut plus être soutenue. Il se base pour appuyer cette opinion sur l'obtention de deux produits cristallisés, retirés des feuilles vertes et rouges d'*Ampelopsis hederacea*. Le composé jaune brunâtre, isolé des feuilles vertes, se transforme par réduction au moyen de l'amalgame de sodium en un composé rouge identique à celui fourni par les feuilles rouges.

Nous ne pouvons mettre en doute les résultats annoncés par R. COMBES; nous attendrons, pour nous prononcer, que l'auteur ait fini l'étude chimique de ces corps et nous donne le moyen de les obtenir, afin de répéter ses expériences. Dans tous les cas, cette nouvelle opinion est bien différente de celle émise précédemment par le même auteur.

R. COMBES : Production expérimentale d'une anthocyane identique à celle qui se forme dans les feuilles rouges en automne, en partant d'un composé extrait des feuilles vertes. *C. R. Ac. Sc.*, 157, 1002, 1913.

blesure (traumatolyse), qui ont pour effet de mettre en contact ferments et glucosides, soit par dilacération des éléments permettant alors l'exolyse cellulaire.

La coloration brusque des feuilles de Hêtre, d'*Ampelopsis*, etc., se produisant du jour au lendemain, à la suite d'un froid intense ou même d'une légère gelée, se rattache aux phénomènes du gel décrits par GUIGNARD (1). Si, au lieu d'un glucoside à acide cyanhydrique, à salicylate de méthyle, dont nous pouvons percevoir l'odeur, nous avons un composé glucosidique avec un noyau phénolique facilement oxydable, nous obtiendrons rapidement une coloration jaune, orangée ou brune.

Les blessures (piqûres d'insectes), les traumatismes agiront d'une manière semblable en mettant en contact le glucoside et les ferments hydrolysants et oxydants.

Une lumière trop intense agira de la même façon. PUGNET (2), en soumettant aux rayons ultra-violetts des plantes telles que le Mélilot, la Vanille, a pu provoquer l'apparition de l'odeur de coumarine ou de vanilline par le dédoublement du glucoside. Une forte insolation n'agit pas autrement, mais sur une plante à glucosides tanniques le phénomène de dédoublement se traduira par une oxydation, c'est-à-dire une coloration de la feuille ou de l'organe ensoleillé.

Le mode de formation de ce pigment anthocyanique peut être suivi facilement dans le Sarrasin où l'on voit la partie de la tige exposée au soleil prendre une teinte rouge caractéristique.

Sur la coupe on voit, dans la partie non exposée au soleil, les cellules à rutine avec leur coloration jaune, tandis que dans la partie ensoleillée ces mêmes éléments sont colorés en rouge intense. Par les solutions alcalines faibles, tous ces éléments se colorent en jaune.

Les recherches microchimiques faites sur d'autres végétaux montrent également que le rougissement a lieu dans les cellules qui donnaient primitivement les réactions des tanins.

Durant ce phénomène, y a-t-il augmentation des hydrates de carbone ? C'est possible. Mais que ce soit là la cause déterminante du rougissement dans tous les cas observés, c'est peu probable (3). D'ailleurs, COMBES est

1. L. GUIGNARD : Influence de l'anesthésie et du gel sur le dédoublement de certains glucosides chez les plantes. *C. R. Ac. Sc.*, 149, 91-93, 1909.

2. PUGNET : Action des rayons ultra-violetts sur les plantes à coumarine. *C. R. Ac. Sc.*, 151, 566, 1910. Action des rayons ultra-violetts sur la vanille. *C. R. Ac. Sc.*, 152, 1184, 1911.

3. Le rougissement, à la suite des décortications annulaires, des tiges de *Spiraea paniculata* est corrélatif d'une augmentation des hydrates de carbone solubles et insolubles. La teneur en hydrates de carbone totaux passe de 15,62 à 37,91 p. 100, celle des hydrates de carbone solubles de 4,86 à 11,33. La pression osmotique de la cellule est donc augmentée de près du triple. N'y aurait-il pas, dans ces conditions, rupture d'équilibre et mise en contact des glucosides et ferments qui produirait alors le phénomène de coloration ?

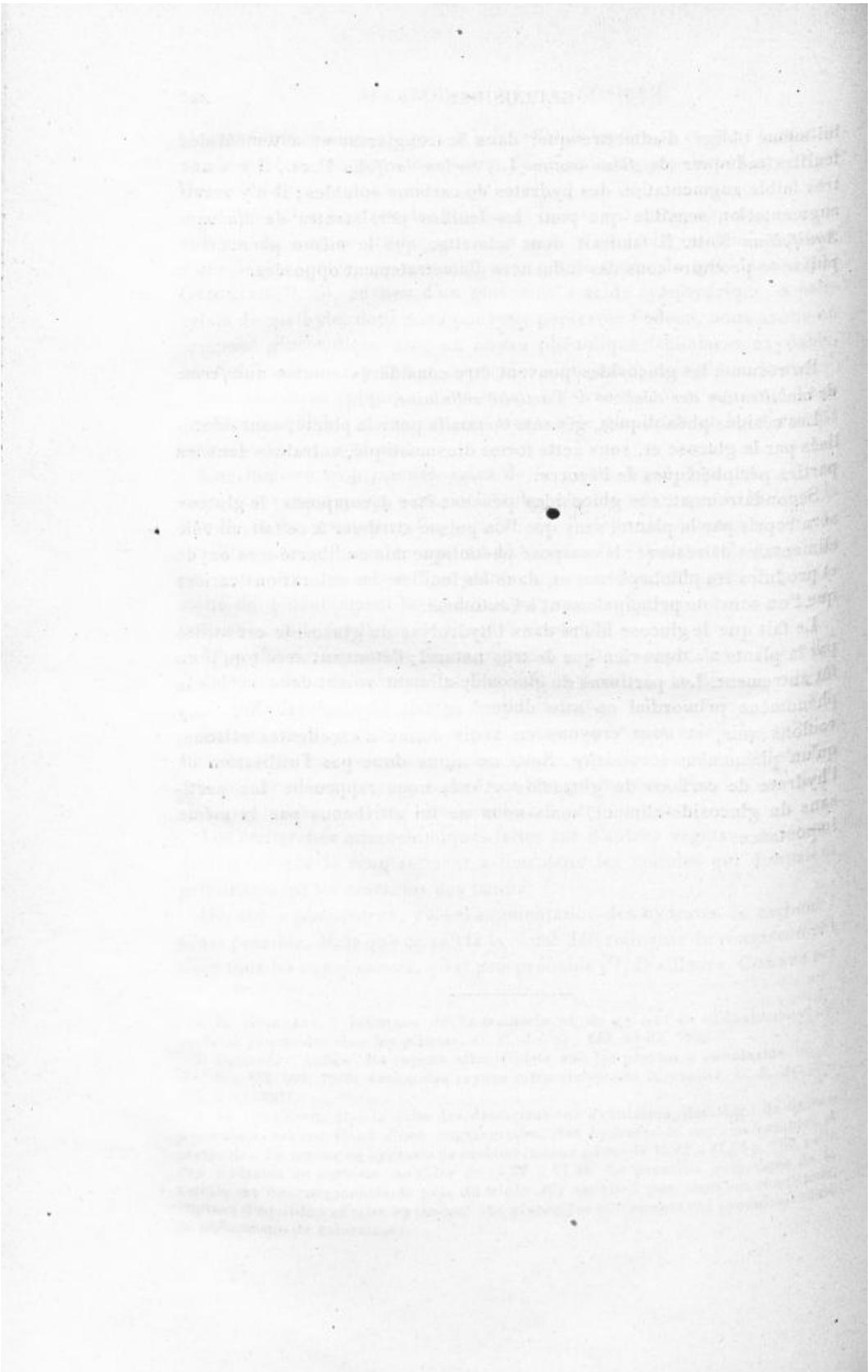
lui-même obligé d'admettre que, dans le rougissement automnal des feuilles caduques de *Rosa canina* L., *Sorbus latifolia* Pers., il y a une très faible augmentation des hydrates de carbone solubles; il n'y aurait augmentation sensible que pour les feuilles persistantes de *Mahonia Aquifolium* Nutt. Il faudrait donc admettre que le même phénomène puisse se produire sous des influences diamétralement opposées.

En résumé, les glucosides peuvent être considérés comme une forme de mobilisation des déchets de l'activité cellulaire.

Les résidus phénoliques, gênants ou nocifs pour la plante, sont solubilisés par le glucose et, sous cette forme diosmotique, entraînés dans les parties périphériques de l'écorce.

Secondairement, ces glucosides peuvent être décomposés; le glucose sera repris par la plante, sans que l'on puisse attribuer à ce fait un rôle alimentaire de réserve; le composé phénolique mis en liberté sera oxydé et produira les phlobaphènes et, dans les feuilles, les colorations variées que l'on constate principalement à l'automne.

Le fait que le glucose libéré dans l'hydrolyse du glucoside est utilisé par la plante n'a donc rien de très naturel; l'étonnant serait qu'il en fût autrement. Les partisans du glucoside-aliment voient dans ce fait le phénomène primordial en vue duquel se fait l'hydrolyse. Nous n'y voulons voir, et nous croyons en avoir donné d'excellentes raisons, qu'un phénomène secondaire. Nous ne nions donc pas l'utilisation de l'hydrate de carbone du glucoside et cela nous rapproche des partisans du glucoside-aliment, mais nous ne lui attribuons pas la même importance.



## BIOLOGIE DES GLUCOSIDES CYANOGENÉTIQUES

### I

#### MODE DE FORMATION DES GLUCOSIDES CYANOGENÉTIQUES

C'est à dessein que nous avons laissé de côté, dans le chapitre précédent, tout ce qui a trait aux glucosides cyanogénétiques. Nous avons tenu à les étudier à part, parce que des travaux méthodiques ont été faits sur l'origine et le rôle de ces glucosides.

Ce groupe, en effet, se caractérise par son importance et par la constance que présente la constitution chimique de ses composants. Tous se dédoublent, en donnant un sucre (monose ou biose), de l'acide cyanhydrique et un dérivé aldéhydique ou cétonique. On ne peut donc nier que ces composés aient une structure chimique calquée sur un schéma identique.

Le nombre des végétaux dans lesquels on a signalé la présence de l'acide cyanhydrique dépasse actuellement 250, et ce nombre augmente chaque jour. Ils appartiennent aux familles les plus diverses.

Cette répartition si étendue, le rôle qu'on a attribué à l'acide cyanhydrique dans la formation des matières albuminoïdes, ont tout de suite amené à vouloir généraliser le rôle physiologique de ces composés. Il n'est donc pas étonnant que l'étude des glucosides cyanogénétiques ait pris une importance aussi grande dans ces dernières années, et que la cyanogenèse constitue actuellement un des chapitres les plus intéressants de la physiologie végétale. Les recherches de TREUB, GUIGNARD, RAVENNA, JORISSEN, concernant la genèse et le rôle de ces composés, ont commencé à mettre un peu de clarté dans la question, mais nous sommes encore bien loin de connaître leur origine et leur véritable signification.

**Concordance entre la répartition de la chlorophylle et celle de l'acide cyanhydrique.** — Ce qui frappe tout d'abord, lorsqu'on étudie la

répartition des composés générateurs de l'acide cyanhydrique dans les végétaux, c'est la concordance absolue qu'elle présente avec celle de la chlorophylle. GUIGNARD (1) n'avait pas manqué de le faire remarquer, mais la démonstration la plus nette en a été donnée par TREUB (2), qui a eu l'heureuse idée d'étudier la localisation du composé cyanique dans certaines feuilles panachées. Les recherches ont été faites chez *Alocasia macrorrhiza* Schott., *Hevea brasiliensis* Muell. et *Dieffenbachia* sp. La réaction du bleu de Prusse ne se manifeste pas, ou ne se produit que très faiblement, au niveau des surfaces blanches, tandis qu'elle est intense dans les régions vertes du limbe. (Pl. XXX, 1).

Les tissus chlorophylliens, les feuilles notamment, semblent donc être le lieu où prennent naissance les glucosides cyanogénétiques. Il n'y a là, semble-t-il, rien de très naturel, puisque la fonction chlorophyllienne intervient dans la formation des hydrates de carbone qui entrent dans la molécule de ces glucosides.

Cependant, nous devons faire remarquer que la règle n'est pas générale, et que les glucosides générateurs d'acide cyanhydrique peuvent également se rencontrer dans des tissus privés de chlorophylle : nous citerons en particulier les racines de *Manihot utilissima* Pohl. GUIGNARD a même démontré que, dans le *Spiraea Aruncus* L., le glucoside s'accumule dans la racine, et qu'il existe en proportions beaucoup moins grandes dans les feuilles et les rameaux. Les racines du *Sorghum halepense* Pers., *Thalictrum aquilegifolium* L., *Cotoneaster microphylla* Wall., *Photinia serrulata* Lindl. (Franc de Pied), *Passiflora* et *Pangium* divers renferment également des glucosides cyanogénétiques.

**La formation des glucosides à acide cyanhydrique se trouve sous la dépendance des radiations lumineuses.** — La lumière joue un rôle prépondérant dans la formation de ces glucosides. Déjà, en 1877, LÉONARD (3) avait remarqué que la lumière solaire favorisait la naissance de l'« amygdaline » (prulaurasine) dans les feuilles de Laurier-cerise. TREUB (4) constata dans ses recherches sur le *Phaseolus lunatus* L., que la quantité de composé cyanique formé par cette plante était beaucoup plus élevée pendant les périodes ensoleillées que pendant les périodes pluvieuses. Bien plus, il a pu montrer que la quantité d'acide prussique trouvée dans les feuilles varie suivant les heures de la journée. Pour le *Passiflora minima* L., il a remarqué que les folioles récoltées à midi sont plus riches en acide cyanhydrique que les autres folioles des mêmes

1. GUIGNARD : Recherches physiologiques sur la greffe des plantes à acide cyanhydrique, *loc. cit.* Ann. Sc. Nat., 6, 261-305, 1907.

2. TREUB : *Loc. cit.*, Ann. Buitenzorg, 1907, 1909.

3. LÉONARD : Action de la lumière sur la production de l'amygdaline dans les feuilles du Laurier-cerise. Journ. de pharm. chim. (4 s.), 25, 201, 1877.

4. TREUB : *Loc. cit.* Ann. Buitenzorg, 100, 1904; 104, 1907.

feuilles cueillies à sept heures du matin ou cinq heures du soir :

A 7 HEURES	A MIDI	A 5 HEURES
0,019	0,021	0,017
0,015	0,020	0,013
0,032	0,039	0,032

RAVENNA et PELI<sup>(1)</sup> ont pleinement confirmé les résultats de TREUB. Ils ont opéré, avec le *Sorghum vulgare* Pers., de la façon suivante : Le matin, les feuilles de plusieurs individus étaient divisées longitudinalement en deux parties symétriques. L'une de ces parties était traitée aussitôt; l'autre, munie de la nervure médiane, était laissée sur la plante et cueillie dans l'après-midi, après séparation de la nervure médiane. On avait donc ainsi deux lots de feuilles absolument comparables. Dans tous leurs dosages, RAVENNA et PELI ont trouvé des chiffres supérieurs pour les lots récoltés l'après-midi.

L'influence de la lumière solaire a surtout été mise en évidence par les essais de culture à l'obscurité. TREUB<sup>(2)</sup>, dans ses recherches sur les diverses plantes à acide cyanhydrique, n'a pas manqué de les soumettre toutes à l'obscurité complète, ou, ce qui est préférable, à un très faible éclairage où l'assimilation chlorophyllienne était alors, sinon totalement supprimée, du moins fortement amoindrie. Avec le *Pangium edule* Reinw., le *Phaseolus lunatus* L., le *Manihot utilissima* Pohl., le *Passiflora foetida* L., et le *Prunus javanica* Miq., il a toujours constaté une diminution et même une disparition totale de l'acide cyanhydrique après une privation de lumière pendant un certain temps. De plus, les plantes, après avoir perdu leur principe cyanique pendant un court séjour à l'obscurité, reforment ce principe lorsqu'on les remet à la lumière solaire. C'est ainsi que, pour le *Phaseolus lunatus*, on trouve au début 0,081 et 0,068 d'acide cyanhydrique total, tandis qu'après cinq ou six jours d'obscurité le taux de cet acide tombe à 0,032 et 0,023 p. 100.

**Rôle des hydrates de carbone.** — On pouvait se demander si l'influence de la lumière solaire était primordiale. Est-elle nécessaire à la synthèse des composés cyaniques ou bien se borne-t-elle à produire les hydrates de carbone entrant dans la composition des glucosides? En un mot, son action est-elle directe ou indirecte? Il semble bien, après les expériences de TREUB sur le *Pangium* et le *Phaseolus*, que la lumière solaire ne constitue pas un facteur indispensable.

En recouvrant certaines feuilles de ces deux végétaux avec des sachets d'étain, TREUB a pu constater que les organes ainsi privés de lumière

1. C. RAVENNA et A. PELI : L'acido cianidrico e l'assimilazione dell'azoto nell' piante verdi. *Gazzett. chim. ital.* **37** (2), 585-600, 1909.

2. TREUB : *Loc. cit.*, *Ann. Buit.*, 104, 1904.

renfermaient encore autant d'acide cyanhydrique que les organes éclairés. Si la plante avait séjourné à l'obscurité pendant un laps de temps égal à celui de l'expérience (quinze jours), elle aurait perdu la totalité de son principe cyanhydrique.

On peut même amener la disparition de ce glucoside dans des feuilles exposées aux rayons solaires, mais placées dans des conditions telles que la fonction chlorophyllienne ne puisse s'exercer. TREUB, en disposant des rameaux de *Pangium* dans une cloche de verre fortement éclairée, mais dont l'atmosphère est privée d'acide carbonique, a vu l'acide cyanhydrique disparaître des feuilles, et réapparaître lorsqu'on cessait l'expérience, en remplaçant l'atmosphère confinée par de l'air ordinaire.

RAVENNA et PELI ont fait des expériences analogues avec les feuilles du *Sorghum vulgare* et leurs conclusions confirment celles de TREUB. Des feuilles de Sorgho récoltées sur des pieds de même âge et de même provenance ont été partagées en deux lots. L'un est traité immédiatement, l'autre est placé dans une cloche de verre; la gaine de ces feuilles plonge dans une solution saline nutritive, *dépourvue d'hydrate de carbone*. On arrête l'expérience après huit à dix heures et l'on constate que la proportion d'acide cyanhydrique contenue dans ces feuilles est bien inférieure à celle des feuilles du lot témoin. Si on introduit de l'air ordinaire dans la cloche, cette différence ne s'observe plus.

Ainsi donc, c'est la suppression de l'assimilation chlorophyllienne qui amène la disparition des composés cyanogénétiques; il est donc permis de supposer que les rayons lumineux n'interviennent dans la cyanogénèse que pour et par la production des hydrates de carbone.

Ce rôle des hydrates de carbone, TREUB a pu le démontrer définitivement au cours de ses recherches sur la *Phaseolus lunatus*, alors que ses essais sur le *Pangium* avaient été infructueux.

Dans une chambre faiblement éclairée, il expose de jeunes feuilles fraîchement cueillies et plonge les pétioles dans des petits flacons contenant: l'un de l'eau pure, les autres les solutions de sucre à essayer. En opérant de cette manière, il a constaté que les feuilles dont le pétiole plongeait dans l'eau pure perdaient peu à peu leur acide cyanhydrique, tandis que ce corps augmentait avec certaines solutions sucrées.

Le glucose, en solution à 4 ou 5 p. 100, est le sucre qui se prête le mieux à la formation de l'acide cyanhydrique.

Le lévulose convient moins bien.

Le galactose à 5 p. 100 et même à 2 p. 100 agit comme un véritable poison: les feuilles se recroquevillent et meurent après deux ou trois jours. Au contraire, le lactose, qui renferme du galactose dans sa molécule, est presque aussi favorable que le dextrose. C'est ainsi qu'une expérience faite avec une solution de lactose à 5 p. 100, additionnée de 1 p. 100 de

nitrate de potassium, a donné les chiffres suivants : quantité initiale 0,0231 p. 100, après séjour dans l'eau 0,0181 p. 100, après séjour sur le lactose 0,0314 p. 100.

Le *maltose* et le *saccharose* en solution à 10 p. 100 ont donné des résultats positifs, mais moins nets que le glucose et le lactose.

La *mannite* et l'*arabinose* sont nocifs ; le *xylose* donne des résultats peu satisfaisants.

Le *raffinose*, la *glycérine* en solution à 2, 4, 8 p. 100 n'ont donné aucun résultat.

RAVENNA et PELI constatèrent que les feuilles du *Sorghum vulgare* Pers. se comportaient exactement comme celles du *Phaseolus lunatus* L.

**Rôle des Nitrates.** — Au cours de ses expériences sur le *Pangium*, TREUB avait constaté que les pieds cultivés dans une terre pauvre en azote étaient beaucoup moins riches en principes cyanogénétiques que ceux ayant poussé dans un sol normal. Quelques années après, BRUNNICH (1) fit une remarque analogue pour les diverses variétés de Sorgho cultivées au Queensland. Dans les terres riches en nitrate de sodium, les feuilles et les tiges de cette graminée renferment beaucoup d'acide cyanhydrique.

Ce rôle intéressant des nitrates fut repris par TREUB dans son étude du *Phaseolus*. Il put ainsi constater que des rameaux du Haricot de Java, cultivés en chambre demi-obscur, dans des solutions de glucose pur à 5 p. 100, ou de glucose additionné de 2 p. 100 d'azotate de potassium, contenaient des proportions différentes d'acide cyanhydrique. Dans quatre expériences sur cinq, les feuilles alimentées avec la solution nitratée fournissaient la plus forte proportion de composé cyanique. Dans certains cas même, cette proportion dépassait celle qu'on observe dans la nature.

RAVENNA et PELI (2), opérant à la lumière sur le Sorgho, avec une méthode identique, ont confirmé les résultats de TREUB.

Toutefois, la proportion de nitrate ne doit pas dépasser un certain taux. TREUB a remarqué dans ses expériences sur le *Phaseolus* qu'un excès de nitrate amène une disparition presque complète du composé cyanhydrique. RAVENNA et ZAMORANI constatèrent de leur côté que l'augmentation d'acide cyanhydrique ne suit pas une marche parallèle à l'accroissement des nitrates dans le sol. Des Sorghos alimentés avec des solutions d'azotate de soude à 1 p. 1000 étaient beaucoup plus riches que les individus arrosés avec des solutions à 3 ou 4 p. 1000.

C'est là un fait bizarre, que TREUB explique en admettant que l'abondance des nitrates favorise bien plus le métabolisme des glucosides cyan-

1. BRUNNICH : Hydrocyanic acid in Fodder-plants. *Journ. of the Chem. Soc.*, 83, 788-796, 1903.

2. C. RAVENNA et PELI : *Loc. cit.*, *Gazzett. Chim. ital.*, 585-600, 1907.

hydriques que la cyanogénèse elle-même. La production de ces glucosides deviendrait insuffisante pour remplacer ceux qui se transforment en des combinaisons plus complexes, et ainsi s'expliquerait la faible quantité d'acide cyanhydrique trouvée dans les plantes qui croissent en milieux trop riches en nitrates.

**Rôle de la transpiration.** — TREUB avait constaté que l'acide cyanhydrique diminuait dans les feuilles du *Pangium* et du *Phaseolus* à mesure qu'elles sont plus âgées, pour disparaître au moment de leur chute. Dans le *Sambucus nigra*, GUIGNARD trouva un résultat tout à fait opposé et il put voir que le glucoside cyanhydrique subsiste dans les feuilles qui tombent. TREUB reprit ces expériences avec un plus grand nombre de plantes et dans tous les cas, sauf pour l'*Indigofera galegoides*, il trouva une diminution énorme de principe cyanhydrique. Cette dernière espèce constitue avec le *Sambucus* une curieuse exception :

	JEUNES FEUILLES	FEUILLES sur le point de tomber
<i>Phaseolus lunatus</i> L. . . . .	0,232	0,009
<i>Pangium edule</i> Reinw. . . . .	0,344	0,004
<i>Gynocardia odorata</i> R. Br. . . . .	0,220	0
<i>Taraktogenos Blumei</i> Hassk. . . . .	0,333	0,001
<i>Manihot utilissinia</i> Pohl. . . . .	0,080	0,003
<i>Sorghum vulgare</i> Pers. . . . .	0,042	0
<i>Passiflora fetida</i> L. . . . .	0,085	0,006
<i>Dieffenbachia</i> sp. . . . .	0,041	0,005
<i>Alocasia acuta</i> Hall. f. . . . .	0,076	0,004
<i>Lasia spinosa</i> Thw. . . . .	0,121	0,007
<i>Prunus javanica</i> Miq. . . . .	0,214	0,004
<i>Ipomœa dissecta</i> Willd. . . . .	0,144	0,001
<i>Indigofera galegoides</i> DC. . . . .	0,154	0,107

On ne peut admettre que, dans les feuilles âgées, la quantité de ferment n'est plus suffisante pour provoquer le dédoublement du glucoside, puisque les travaux de GUIGNARD ont montré que cet enzyme se trouve toujours, et à toutes les époques, en quantité supérieure à celle qui suffit pour produire cette réaction (1).

TREUB crut tout d'abord à un manque d'hydrate de carbone dans les feuilles âgées, mais l'expérience qu'il fit sur le *Pangium* lui démontra le non-fondé de cette hypothèse. En pratiquant sur cette plante des annélations, il fit apparaître une grande quantité d'amidon dans toutes les feuilles, où, par suite, existaient des composés hydrocarbonés. Or, dans les plantes ainsi traitées, les feuilles inférieures âgées étaient à peu près dépourvues de glucoside cyanhydrique.

TREUB explique alors ce phénomène de la façon suivante. La trans-

1. Il est donc inutile d'ajouter de l'émulsine comme l'ont fait certains auteurs.

piration des vieilles feuilles, dit-il, est moins active que celle des jeunes feuilles; celles-ci attirent à elles la plus grande partie de la sève ascendante qui apporte avec elle les nitrates nécessaires à la synthèse des glucosides. Si donc l'on vient à supprimer toutes les jeunes feuilles, la transpiration, et par suite le transport de la sève se faisant par les feuilles adultes, la proportion d'acide cyanhydrique doit augmenter dans ces dernières. C'est ce que l'auteur a vérifié sur le *Pangium*. Il supprima tous les jeunes limbes d'un pied de *Pangium*, ne laissant que quelques feuilles âgées. Celles-ci, au début, ne renfermaient que des traces d'acide cyanhydrique, tandis qu'après huit jours ce principe augmentait sensiblement et se montrait surtout le long des grosses nervures.

TREUB répéta ces expériences sur le *Phaseolus*; il put, dans ce cas, amener une diminution du principe cyanhydrique dans des feuilles immergées, même dans de l'eau chargée d'acide carbonique. Dans ces conditions, la formation d'hydrate de carbone pouvait encore se faire, mais la transpiration étant supprimée, il y avait arrêt dans la synthèse des glucosides cyanogénétiques.

L'hypothèse de TREUB concernant le rôle de la transpiration semble donc être juste. Ainsi peuvent s'expliquer les variations dans la teneur en acide cyanhydrique des végétaux d'une même espèce, suivant l'année ou le climat. La transpiration étant soumise à l'influence de la température, du vent, de l'état hygrométrique de l'atmosphère, on voit immédiatement le rôle que peut jouer un climat dans la formation des glucosides cyanhydriques.

GUIGNARD (\*) a observé que des graines de *Phaseolus* très riches en acide cyanhydrique, mais cultivées à Paris, donnaient des plantes ne renfermant que 0,063 p. 100, tandis que des graines semblables, cultivées à Java, avaient fourni à TREUB des individus titrant jusqu'à 0,250 p. 100 d'acide cyanhydrique.

RAVENNA et TONEGUTTI (\*\*) ont trouvé, dans le *Sambucus*, une proportion d'acide cyanhydrique deux fois plus forte que celle indiquée par GUIGNARD pour la plante croissant à Paris.

Les chaumes du *Stipa leptostachya* Gris., cueillis à 2.500 m. d'altitude dans une vallée entourée de montagnes, sont pauvres en acide cyanhydrique, tandis que, récoltés à 3.800 m. sur un plateau dénudé, ils renferment une proportion notable de ce glucoside cyanhydrique [HEIM et HÉBERT (†)].

1. GUIGNARD : Sur les quantités d'acide cyanhydrique fourni par le *Phaseolus lunatus* L., cultivé sous le climat de Paris. *Bull. de Sc. Pharm.*, **14**, 565-569, 1907.

2. C. RAVENNA et M. TONEGUTTI : Contributo allo studio dell'acido cianidrico nel Sambuco. *Staz. sperim. agr. ital.*, **42**, 855-879, 1909.

3. F. HEIM et A. HÉBERT : Sur la toxicité de deux *Stipa*. *Bull. Soc. franç. colonisation. Bull. agr. col.*, juillet 1904; Les « Viscacheras » Graminées andines, productrices d'acide cyanhydrique. *Bull. mens. de l'Assoc. franç. pour l'avancement des Sciences*, **1**, 382, 1904.

Ainsi l'hypothèse de TREUB permet d'expliquer toutes ces différences dans la teneur en principe actif d'espèces végétales cultivées dans des conditions climatiques différentes.

**Rôle de la spécificité héréditaire.** — Toutefois, cette hypothèse ne permet pas d'expliquer les variations que l'on constate, pour une espèce déterminée, chez les individus développés dans les mêmes conditions. GUIGNARD a pu constater, pour le *Photinia serrulata* Lindl., des proportions d'acide cyanhydrique très variables. Les feuilles d'un arbre cultivé à l'École de Pharmacie fournissaient 0,120 p. 100 d'acide cyanhydrique, tandis qu'un *Photinia*, provenant d'un parc de Châtillon, renfermait 0,37 p. 100 ('). Des différences aussi grandes ne sont pas imputables aux conditions de milieu qui, dans ce cas particulier, étaient bien peu différentes. Il faut donc faire intervenir un autre facteur : l'hérédité.

Ces variations individuelles que nous constatons sont peut-être des causes intrinsèques à chaque végétal, et transmises par l'hérédité. La diagnose des espèces et des races, parfois si difficile à réaliser au moyen des caractères de morphologie externe ou interne, trouvera peut-être dans la chimie un appui inespéré. Ce n'est pas là une hypothèse gratuite et les travaux de GUIGNARD (2), sur la greffe, viennent bien légitimer cet espoir.

Les recherches de ce savant nous ont appris que « lorsqu'une plante à glucoside cyanhydrique est greffée sur une autre plante dépourvue de ce composé, ou inversement, il n'y a aucun transport de ce glucoside ni du greffon dans le sujet, ni du sujet dans le greffon ». Mais ce qu'il y a surtout d'intéressant, c'est que lorsque le greffon et le sujet renferment tous deux de l'acide cyanhydrique (*Photinia* greffé sur Cognassier), la proportion de ce principe contenue dans chaque plante ne varie pas. En un mot, il n'y aurait pas transport de l'un à l'autre quand bien même la différence entre les quantités d'acide cyanhydrique contenues dans les deux plantes serait considérable. La propriété de produire des glucosides cyanhydriques serait donc propre à l'individu, et ce caractère serait aussi immuable qu'un caractère morphologique.

Ainsi donc, les expériences de TREUB, confirmées dans la plupart des cas par celles de RAVENNA et de ses élèves, nous montrent que la formation des glucosides cyanhydriques a lieu aux dépens des matériaux puisés directement dans le milieu extérieur. Elles nous montrent même comment interviennent ces différents facteurs (fonction chlorophyllienne, assimilation de l'azote, transpiration, hérédité). Mais il est impossible de pouvoir dire comment se fait cette synthèse des hydrates de carbone élaborés dans les feuilles, et de l'azote puisé dans le sol.

1. N. B. On retrouve des faits analogues pour les différentes variétés de Laurier-cerise.

2. GUIGNARD : *Loc. cit.*, *Ann. Sc. Nat.*, 6, 1907.

TREUB a bien émis une hypothèse sur laquelle nous reviendrons plus loin. Il admet la formation primordiale de l'acide cyanhydrique, entraînant celle des glucosides, pour arriver ensuite aux matières albuminoïdes. Il croit, pour cela, à la présence d'acide cyanhydrique libre dans la plante; or, rien n'est moins prouvé.

La formation anabolique des glucosides cyanogénétiques à partir des éléments les plus simples ne répond pas à tout ce nous savons sur le sujet et ne peut satisfaire complètement l'esprit.

Ces composés peuvent avoir une tout autre origine, et dès 1884 les expériences de JORISSEN (1) l'avaient déjà montré. En faisant germer à l'obscurité des graines de Lin, il a obtenu des plantes étiolées qui, récoltées au moment où les cotylédons commencent à sortir des téguments, renfermaient une proportion d'acide cyanhydrique bien supérieure à celle que l'on rencontre dans les graines au repos.

Le même fait se produit pour les amandes douces qui ne contiennent que des traces infimes d'acide cyanhydrique, tandis que les plantules étiolées, issues de ces graines, renferment jusqu'à 0,002 p. 100 du même principe.

SOAVE (2), tout dernièrement, a confirmé les résultats de JORISSEN. Les plantules d'amandes douces, développées à l'obscurité dans un milieu privé d'aliments azotés et carbonés, renferment de l'acide cyanhydrique. La quantité de glucoside cyanogénétique augmente dans les amandes amères, et dans les graines d'*Eriobotrya japonica* Lindl., pendant les premières phases de la germination.

TREUB (3), de son côté, a pu constater que les graines de *Sorghum vulgare*, ne renfermant pas trace d'acide cyanhydrique, produisaient ce composé lorsqu'on les mettait à germer à l'obscurité dans un milieu dépourvu d'azote et de substances hydrocarbonées.

Ce résultat a été confirmé par RAVENNA et ZAMORANI (4), en faisant germer des graines de Sorgho sur du sable lavé, calciné et humecté d'eau distillée.

Il en est de même des graines de *Linum usitatissimum* L. placées dans les mêmes conditions.

Ainsi donc, dans tous les cas que nous venons de citer, la formation des glucosides cyanogénétiques s'est faite au détriment des matériaux de réserve accumulés dans la graine. C'est donc par un *catabolisme* des

1. JORISSEN : Recherches sur la germination des graines de Lin et des Amandes douces. *Bull. Ac. roy. de Belg.* (3<sup>e</sup> s.) 7, 736-745, 1884.

2. SOAVE : Sulla funzione fisiologica dell'acido cianidrico nelle piante. *Staz. speriment. agr. ital.*, 21, 501, 1898; I glucosidi cianogenetic delle piante e la utilizzazione dell'azoto delle reserve. *Ann. dell. r. Acc. d'agr. di Torino*, 49, 99-108, 1906.

3. TREUB : *Loc. cit.*, *Ann. Buit.*, 1909.

4. C. RAVENNA et M. ZAMORANI : Sulla formazione dell'acido cianidrico nella germinazione dei semi, *Rendiconti d. r. Ac. dei Lincei*. 49 (2), 356-361, 1910.

matières albuminoïdes que s'est constituée ici la molécule des glucosides cyanogénétiques (1).

Evidemment, l'on ne connaît rien des transformations complexes qui se sont produites, mais les conditions dans lesquelles s'est effectuée cette formation (l'absence des radiations lumineuses, des composés azotés et hydrocarbonés dans le milieu ambiant) ne laissent aucun doute sur l'origine de ces glucosides.

Il y aurait donc deux modes de formation de ces composés : l'un, de nature synthétique, trouverait ces glucosides sur la route qui conduit aux matières albuminoïdes ; l'autre, analytique (régressif), sur la route qui en revient.

Il n'y a là rien d'impossible. Cependant, on peut s'étonner de ne pas trouver *trace* de ces glucosides dans les graines qui fournissent de l'acide cyanhydrique pendant la germination.

Ne pourrait-on aussi bien admettre que dans les plantes vertes, le composé qui se forme est une substance albuminoïdique complexe, qui, par dégradation, donne à son tour le composé cyanique. La formation des glucosides cyanhydriques, de cette façon, n'aurait plus une double origine. Cette hypothèse ne pourrait toutefois expliquer la diminution de ces glucosides dans les feuilles âgées, qu'en admettant une destruction de ces composés, lors du vieillissement ou de la dessiccation des organes.

1. N. B. L'oxydation, *in vitro*, des matières albuminoïdes, donne de l'aldéhyde benzoïque et de l'acide cyanhydrique (JORISSEN, *loc. cit.*, 85.)

## MIGRATION DES GLUCOSIDES CYANOGENÉTIQUES

Les expériences les plus probantes de TREUB, sur lesquelles on peut essayer d'établir une hypothèse sur le rôle de ces glucosides, sont celles qui ont trait à la diminution de ces principes pendant le vieillissement des organes.

Cette diminution est énorme; nous avons vu, en rappelant le rôle de la transpiration dans la cyanogénèse, que les feuilles, au moment de leur chute, sont presque dépourvues d'acide cyanhydrique. Il y a bien quelques exceptions: GUIGNARD a montré que *Sambucus nigra* L., *Passiflora caerulea* L., étaient aussi riches en principe cyanhydrique à la fin de novembre qu'au mois de juillet. TREUB a signalé un fait identique pour l'*Indigofera galeoides*; mais, dans plus de quarante plantes cyanogénétiques, cette diminution a été constatée, et il y a là un résultat dont la généralité montre tout l'intérêt.

Le glucoside cyanhydrique qui existait à un moment donné dans la feuille a donc disparu. Il ne s'en forme plus, parce que la transpiration plus active dans les jeunes feuilles amène dans ces dernières, avec la sève ascendante, les nitrates nécessaires à la formation des glucosides cyanhydriques. Les feuilles âgées ne peuvent donc plus, par défaut de ce sel minéral, produire les substances cyanogénétiques.

Mais que devient le glucoside qui s'y trouvait primitivement? Il nous faut donc admettre qu'il se détruit ou qu'il se transforme? On a prétendu qu'il y avait migration de ce glucoside de la feuille vers la tige. Il est incontestable que la présence de composé cyanhydrique dans le liber du *Pangium* et de quelques autres plantes à acide cyanhydrique, parle en faveur de cette hypothèse. Mais comment expliquer alors la faible proportion d'acide cyanhydrique que l'on trouve dans les tiges de ces plantes? Si le glucoside quitte les organes verts pour descendre dans l'axe (tige et quelquefois racines), il devrait y avoir proportionnellement une teneur plus grande de ce corps dans l'écorce de la tige que dans les feuilles. Or, les dosages de GUIGNARD sur le *Sambucus*, le *Ribes*, le *Cotoneaster* (rameaux de deux ans) montrent absolument le contraire; et, cependant, il semble incontestable qu'il y ait une migration glucosidique des feuilles vers la tige.

L'étude des greffes de plantes à acide cyanhydrique par GUIGNARD semble lever tout doute à ce sujet.

Cet auteur a montré que, dans la greffe des végétaux cyanogénétiques, il n'y a pas, ou il n'y a que très rarement, passage des glucosides du greffon au sujet. Le bourrelet constitue une barrière au transport de ces principes. S'il en est ainsi, le glucoside venant des feuilles, ne pouvant aller plus loin, devra s'accumuler au voisinage de ce tissu de cicatrisation. Et de fait, il en est ainsi. Si l'on étudie le *Photinia serrulata* Lindl., on trouve que les feuilles de l'année d'un arbre de trois à quatre ans donnent un taux d'acide cyanhydrique compris entre 0,080 et 0,095; avec le mélange de l'écorce de différents rameaux de la tige, ce taux varie de 0,045 à 0,060.

Si l'on prend un *Photinia* greffé sur Cognassier, et si l'on dose l'acide cyanhydrique dans les feuilles et dans l'écorce prise au-dessus du bourrelet, on trouve :

	ÉCORCE DE LA TIGE	FEUILLES DE L'ANNÉE
I. . . . .	0,061 p. 100	0,070 p. 100
II. . . . .	0,078 —	0,082 —
III. . . . .	0,051 —	0,115 —

Si la teneur n'a pas varié dans les feuilles, celle de la tige est incontestablement un peu plus élevée que dans une plante normale.

Il en est de même pour le *Cotoneaster microphylla* Wall. greffé sur *C. frigida* Wall. Le taux de l'acide cyanhydrique dans les feuilles et les rameaux du témoin était de 0,120 p. 100 et de 0,050 p. 100; avec les feuilles et les rameaux du greffon, on trouve : 0,092 p. 100 et 0,060 p. 100.

Dans le sujet porte-greffe, on constate ici, d'une façon tout exceptionnelle, une migration descendante du composé cyanique fabriqué dans le greffon. La tige partagée en trois parties donne : pour la partie supérieure voisine du bourrelet 0,021 p. 100 d'acide cyanhydrique, pour la partie moyenne 0,06 p. 100 et pour l'inférieure 0,05 p. 100.

Il y a donc migration du composé cyanique des feuilles vers la tige.

Pourquoi alors les tiges, au bout d'un certain temps, d'années même pour les arbres, ne renferment-elles pas une quantité considérable de glucosides? Celui-ci s'y transforme-t-il, ou s'y détruit-il?

D'autres faits du même ordre ont été constatés par GUIGNARD<sup>(1)</sup>, puis par COUPEROT<sup>(2)</sup>, lors de la dessiccation des végétaux à acide cyanhydrique. Des folioles de Sureau séchées sans précautions à l'air libre, pendant trois mois, perdent la moitié de leur acide cyanhydrique. Cou-

1. GUIGNARD : Nouvelles observations sur la formation et les variations quantitatives du principe cyanhydrique dans le Sureau noir. *Bull. Sc. Pharm.*, **13**, 65, 1906.

2. COUPEROT : Pertes en nitrates et en acide cyanhydrique chez les plantes qui en renferment, pendant la dessiccation. *Journ. pharm. et chim.* (6<sup>e</sup> s.), **29**, 100, 1909.

PEROT a confirmé le fait pour le *Sambucus nigra* et sa variété à feuilles laciniées.

RAVENNA et TONEGUTTI (1) démontrent que, pendant la dessiccation, il n'y a pas dégagement d'acide cyanhydrique, et que la feuille de Laurier-cerise se comporte comme celle du Sureau noir. On fait pour cela deux lots, aussisemblables que possible, de feuilles. Dans l'un, on dose immédiatement l'acide cyanhydrique; l'autre est placé sous une cloche de verre, en présence de papier micro-sodé et de chlorure de calcium. Les feuilles se dessèchent ainsi très lentement. Or, dans ces conditions, le papier micro-sodé conserve sa teinte jaune doré, ce qui prouve que l'atmosphère confinée n'a jamais présenté la moindre trace d'acide cyanhydrique, et cependant, la teneur en acide cyanhydrique des feuilles a considérablement diminué.

Les auteurs admettent que les glucosides ne se détruisent pas, mais qu'ils servent à la nutrition cellulaire des organes ainsi soumis à la dessiccation, organes qui conservent leur vitalité, et continuent à se nourrir aux dépens des matières nutritives qu'ils renferment.

Soyons moins absolu qu'eux, et disons simplement que les glucosides cyanhydriques ne se détruisent pas en donnant glucose et acide cyanhydrique et n'affirmons pas qu'il n'y a pas un autre moyen de destruction de ces composés. La question posée plus haut reste entière.

Pendant la dessiccation, ou après emmagasinement dans l'écorce de la tige, les glucosides cyanhydriques se transforment-ils ou se détruisent-ils? Reconnaissons que l'hypothèse d'une transformation en vue de la nutrition du végétal est plausible; mais elle ne s'impose pas d'emblée.

1. C. RAVENNA et M. TONEGUTTI : Alcune osservazioni sulla presenza dell'acido cianidrico libero nelle piante. *Rendiconti d. r. Acc. dei Lincei*, 19 (2), 19-25, 1910.

### ROLE DES GLUCOSIDES CYANOGENÉTIQUES

Les travaux d'ERRERA sur le pouvoir défensif des végétaux firent attribuer aux glucosides cyanhydriques un rôle de protection. La très grande toxicité de l'acide cyanhydrique semblait se prêter très favorablement à cette hypothèse. Mais depuis, nous savons que ces végétaux ne sont pas exempts de la visite des parasites. TREUB<sup>(1)</sup> a vu que le *Pangium* est attaqué par des larves d'*Heterodera* qui se logent dans le sommet végétatif des branches, c'est-à-dire dans un des endroits les plus riches en acide cyanhydrique. Le *Manihot utilissima* Pohl. est la proie d'un acarien appartenant au genre *Tetranychus*. Les feuilles du *Plectronia dicocca* Brck., du *Taraktogenos Blumei* Hassk., de l'*Erythrospermum phytolaccoides* Gärtner, du *Prunus javanica* Miq., sont impunément mangées par différents insectes.

Le rôle protecteur des glucosides cyanhydriques n'est donc plus envisagé actuellement, et l'on peut dire que si ces substances servent à la défense de la plante, ce n'est que tout à fait accidentellement.

**Valeur nutritive des glucosides cyanogénétiques.** — Nous avons vu, au chapitre précédent, en étudiant la valeur nutritive des glucosides, que ceux-ci ne peuvent être considérés que comme des aliments médiocres. PURIEWITSCH<sup>(2)</sup> a pu constater, en ce qui concerne l'amygdaline, que ce glucoside se dédouble sans donner d'acide cyanhydrique. Le fait avait déjà été signalé précédemment par PFEFFER<sup>(3)</sup>.

On constate cependant, dans la liqueur, une diminution graduelle du glucoside, et, par le réactif de NESSLER, une augmentation progressive d'ammoniaque.

La décomposition de l'amygdaline se fait probablement d'après un processus comparable à celui de l'action des alcalis sur ce glucoside<sup>(4)</sup> : il

1. M. TREUB. Notice sur l'« effet protecteur » assigné à l'acide cyanhydrique des plantes, *Ann. jard. bot. Buitenzorg* (2<sup>e</sup> sér.), 6, 107-114, 1907.

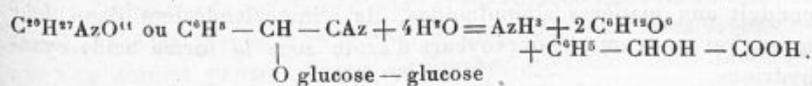
2. K. PURIEWITSCH : Ueber die Spaltung der Glycoside durch die Schimmelpilze, *Ber. d. d. bot. Gessell.*, 16, 368-377, 1898.

3. PFEFFER : Physiologie végétale, trad. J. Friedel. Paris, 1, 507, 1906.

4. Il y a un champignon, l'*Eurotiosis Gayoni*, qui décompose l'amygdaline en glucose, acide cyanhydrique et benzaldéhyde.

LABORDE : Sur une moisissure nouvelle, *Eurotiosis Gayoni*. Th. Doct. Sc., Paris, 1896.

y aurait d'abord formation d'ammoniaque, de glucose et d'acide amygdalique, puis ce dernier donnerait, à son tour, glucose et acide phénylglycolique :



Il y aurait hydratation de la fonction nitrile, en même temps que fixation d'eau pour la séparation des deux molécules de glucose. Cette décomposition serait probablement due à l'invertine existant dans le champignon.

Il n'en est pas toujours ainsi. Si la culture est exposée aux vapeurs d'éther ou de chloroforme, ou végète dans une atmosphère d'hydrogène, il y a formation de benzaldéhyde et d'acide cyanhydrique. La décomposition, cette fois, se fait d'après un processus comparable à l'action des acides sur l'amygdaline. Ce dédoublement biologique est ici le fait de l'émulsine.

La formation de benzaldéhyde n'est pas mortelle pour le champignon, car si on supprime les vapeurs d'éther, de chloroforme, ou l'atmosphère d'hydrogène, celui-ci continue à se développer et l'odeur de benzaldéhyde disparaît peu à peu, mais très lentement.

Est-il assimilé par la plante? Cela n'est pas probable; en tout cas, il faut reconnaître que ce serait un piètre aliment parce que des cultures d'*Aspergillus niger* sur des solutions de benzaldéhyde à 5 p. 100 ne font pas disparaître beaucoup de cette dernière substance, même après 12-14 jours de culture.

Pourtant, TREUB, à la suite de ses recherches sur le *Pangium*, a attribué à l'acide cyanhydrique, et par suite aux composés cyanogénétiques, un rôle de nutrition.

A cette époque, il émit l'hypothèse que l'acide cyanhydrique était le premier produit reconnaissable de l'assimilation de l'azote, et peut-être même le premier composé organique azoté qui se forme.

Pour ce savant, l'acide cyanhydrique libre, ou sous une forme peu stable, donnerait naissance aux glucosides et aux matières albuminoïdes, la forme glucosidique étant la forme sous laquelle ce corps azoté est mis en réserve pour être utilisé plus tard dans de nouvelles constructions. Lorsqu'une croissance lente ne fait que consommer fort peu de matériaux, l'acide cyanhydrique s'accumule sous la forme glucosidique; lorsque la plante au contraire a besoin de ces réserves, la combinaison glucosidique libère de l'acide cyanhydrique sous l'action d'un enzyme, et la teneur en composé cyanogénétique diminue dans la plante. En un mot, l'assimilation de l'azote produirait de l'acide cyanhydrique nécessaire à la formation des matières albuminoïdes, et la forme glucoside ne

serait qu'un stock de réserve, un poste de relais, où la plante viendrait s'approvisionner lorsque ses besoins le réclameraient.

Les glucosides cyanhydriques ne seraient donc plus sur le chemin qui conduit aux matières albuminoïdes, ils n'interviendraient dans leur formation que comme pourvoyeurs d'azote sous la forme acide cyanhydrique.

TREUB avait constaté que dans les toutes jeunes *cellules spéciales*, qui viennent seulement de se différencier comme telles, la matière albuminoïde est encore bien peu dense. Dans la moelle, il a même trouvé de ces cellules qui renfermaient déjà de l'acide cyanhydrique, alors que la matière albuminoïde ne s'était pas encore formée. A quelque distance du sommet végétatif, ces cellules présentent, avec une intensité égale, les réactions des matières albuminoïdes et celles de l'acide cyanhydrique. Si l'on s'écarte un peu plus du sommet, pour approcher des endroits où la vie active des éléments diminue, alors la réaction du bleu de Prusse perd beaucoup de son intensité. Enfin, à une plus grande distance du sommet, on peut trouver des cellules spéciales de la moelle « qui ne contiennent plus du tout d'acide cyanhydrique, quoiqu'elles continuent toujours à renfermer des dépôts de matières albuminoïdes ». En un mot, les cellules spéciales cessent de contenir de l'acide cyanhydrique un certain temps avant de ne plus renfermer de matières albuminoïdes. L'azote cyanhydrique semblerait donc se transformer en azote protéique.

Le même fait se retrouve pour les éléments du liber ou du péri-cycle.

Par contre, les cellules basilaires des poils et les cellules à mâcles d'oxalate de calcium de l'épiderme contiendraient de l'acide cyanhydrique, alors que les matières albuminoïdes y feraient complètement défaut.

TREUB explique ce fait en admettant que ces premiers éléments sont des « laboratoires où le principe se forme, des usines à acide cyanhydrique », tandis que les autres cellules spéciales seraient des « éléments de réserve de ce composé ».

Si l'acide cyanhydrique est le principe générateur des matières albuminoïdes, on peut se demander pourquoi on ne trouve pas ce composé dans tous les végétaux. TREUB et ses partisans prétendent que toutes les plantes vertes produisent de l'acide cyanhydrique, mais dans la majorité des cas, au lieu de séjourner dans les tissus végétaux tel quel ou sous forme de composés glucosidiques, il se transformerait aussitôt après avoir pris naissance, de telle sorte qu'il devient indécélable.

C'est là une explication qui exclut toute possibilité de vérification : l'acide cyanhydrique se forme, mais il est si rapidement transformé qu'il est inutile de le rechercher ! Mais sur quel fait positif se base

l'hypothèse de TREUB<sup>(1)</sup> pour prétendre qu'il se forme de l'acide cyanhydrique dans toutes les plantes vertes? Nous avons longuement et intentionnellement discuté les premières expériences qui ont poussé TREUB à admettre la présence d'acide cyanhydrique libre ou à l'état peu stable, dans les plantes à glucosides cyanogénétiques. Nous savons ce que l'on doit en penser. TREUB est revenu, en 1904, sur sa première opinion. En traitant, comme GUIGNARD l'avait fait, les plantes par l'alcool bouillant, il ne trouve déjà plus la même quantité d'acide cyanhydrique libre qu'en les traitant par l'eau bouillante. Plus récemment encore, en 1909, il reconnaît que son assistant, M. ZEYLSTRA, n'a pu obtenir d'acide cyanhydrique libre en traitant des plantules de Sorgho par l'alcool bouillant. Rapprochons ces différentes opinions des résultats signalés par GUIGNARD, RAVENNA et TONEGUTTI, et supposons, ce qui est très vraisemblable, que dans les plantes à composé cyanique, il n'existe pas d'acide cyanhydrique libre; que deviendra alors l'hypothèse de TREUB? Le rôle de l'acide cyanhydrique, envisagé comme terme de passage entre l'azote minéral et l'azote organique, est tout à fait problématique, et il n'y a pas de raison suffisante pour l'admettre plutôt que toute autre hypothèse.

Ajoutons enfin que l'hypothèse de TREUB s'accorde très mal avec le mode de formation des glucosides cyanhydriques, en partant des réserves azotées de la graine.

\* \* \*

A la fin de cet exposé, il nous reste maintenant à en tirer les conclusions.

Les recherches de TREUB, si elles sont critiquables dans leur point de départ, surtout dans l'affirmation qu'il existe deux formes d'acide cyanhydrique dans les végétaux, ont cependant fixé quelques points définitifs.

Il est incontestable que le rôle joué par les nitrates et l'assimilation chlorophyllienne est nettement établi. Par contre, le rôle de l'acide cyanhydrique libre ou sous une forme instable, dans la formation des matières albuminoïdes, n'est pas suffisamment démontré; il en est de même de celui des glucosides cyanhydriques en tant que substances de réserve génératrices d'acide cyanhydrique.

Rien ne prouve que l'acide cyanhydrique se forme d'abord, et donne les substances albuminoïdes et les glucosides cyanogénétiques. On peut tout aussi bien admettre que ces glucosides dérivent de la désintégration d'une matière albuminoïde plus complexe. Le mode de formation de ces

1. TREUB : *Loc. cit. Ann. Buil.*, 1909, 92.

glucosides, chez les graines qui en sont primitivement dépourvues, est assez probant.

On ne peut davantage tirer un argument en faveur de l'une ou de l'autre des hypothèses de la richesse en glucosides des jeunes feuilles encore dans le bourgeon (1). Il est naturel qu'il en soit ainsi; il n'y a pas là une preuve en faveur du rôle nutritif des glucosides. Cet argument peut tout aussi bien se retourner et servir aux partisans de ceux qui soutiennent que les glucosides sont des produits de déchet. Si la feuille jeune est le siège d'une nutrition intense, elle est aussi le lieu où s'accumulent les déchets. Nous avons déjà fait cette remarque à propos des alcaloïdes.

Il en est de même du fait suivant, cité par TREUB en faveur du rôle nutritif de ces glucosides. Les rhizomes de l'*Alocasia macrorrhiza* Schott. donnent naissance à de minces stolons dont le sommet est la seule région qui présente la réaction du bleu de Prusse. TREUB fait remarquer que le principe cyanhydrique se trouve dans le centre de la multiplication cellulaire où la nutrition s'effectue avec une grande intensité. On pourrait dire : dans l'endroit où la désintégration des matières albuminoïdes nécessaires à l'édifice des cellules est aussi le plus intense. En tout cas, il est curieux de constater que c'est en ce seul point que l'on trouve l'acide cyanhydrique, et que cette extrémité végétative se comporte exactement comme une graine de Sorgho qui germe et qui forme le glucoside cyanhydrique à partir de ses substances albuminoïdes de réserve. On ne peut invoquer ici ni le rôle des nitrates, ni le rôle de la lumière, et l'on se demande alors pourquoi l'on ne retrouve pas trace de composé à une certaine distance du point végétatif !

Toutefois, il convient de faire remarquer qu'au bout d'un certain temps, les stolons cessent de s'allonger, tandis que leur sommet se transforme en bulbille. Or, à ce moment, le glucoside cyanogénétique diminue peu à peu, et disparaît comme s'il avait contribué à la formation de cet organe.

Les glucosides cyanhydriques sont-ils des matériaux de nutrition et peuvent-ils être utilisés par la plante ?

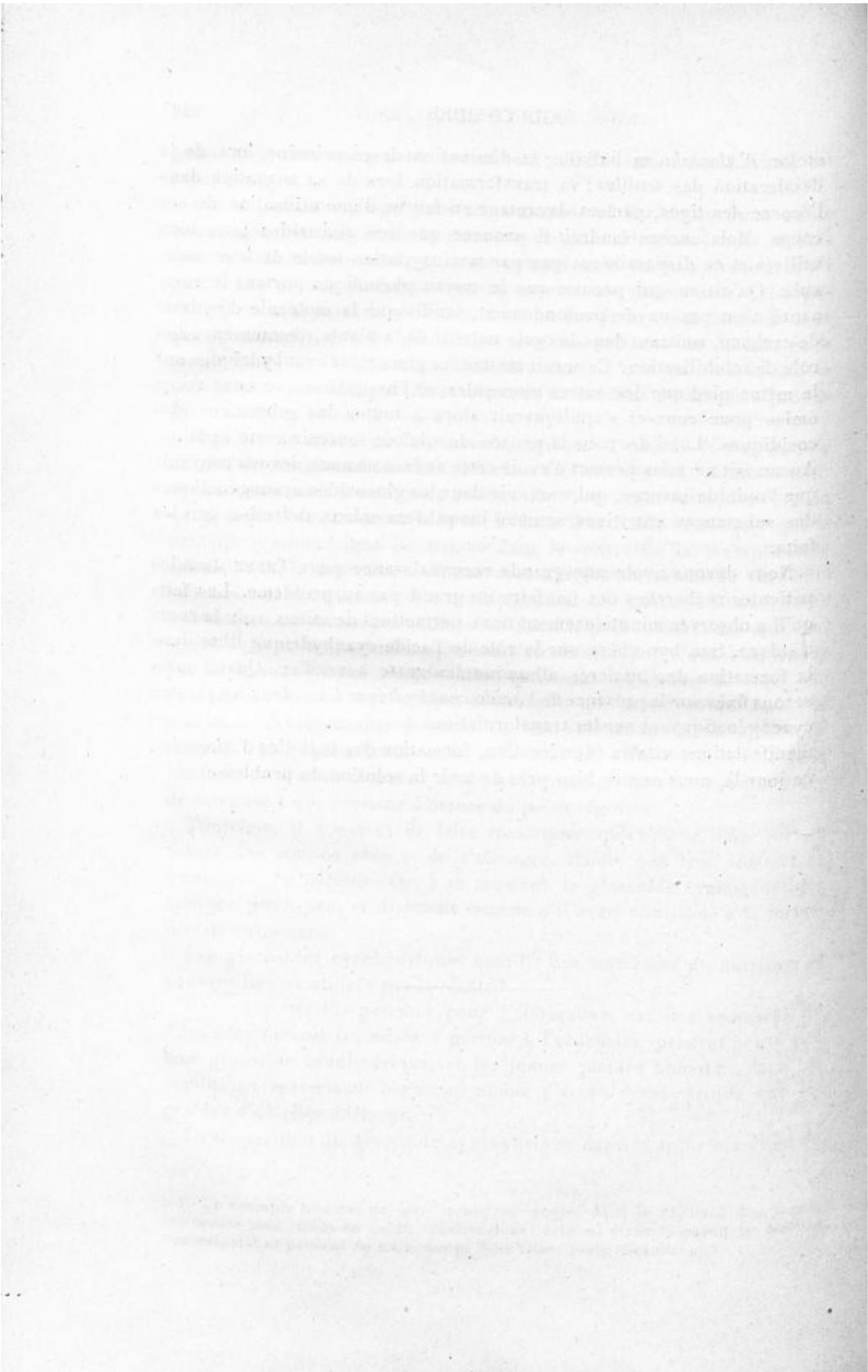
GUIGNARD semble pencher pour l'affirmative, car des semences de *Phaseolus lunatus* L., mises à germer à l'obscurité, perdent peu à peu leur glucoside cyanhydrique, et les jeunes plantes obtenues dans ces conditions renferment beaucoup moins d'acide cyanhydrique que les graines d'où elles dérivent.

La disparition du glucoside cyanhydrique dans la transformation du

1. Un exemple très net de cette teneur se montre dans le *Photinia*. Les jeunes bourgeons sont riches en acide cyanhydrique; celui-ci diminue quand les feuilles s'accroissent et perdent en même temps leur teinte rosée (GUIGNARD).

stolon d'*Alocasia* en bulbille; la diminution de ce principe, lors de la dessiccation des feuilles; sa transformation lors de sa migration dans l'écorce des tiges, parlent davantage en faveur d'une utilisation de ces corps. Mais encore faudrait-il prouver que ces glucosides sont bien utilisés et ne disparaissent pas par une oxydation totale de leur molécule. Qu'est-ce qui prouve que le noyau phénolique portant le reste azoté n'est pas oxydé profondément, tandis que la molécule d'hydrate de carbone, rentrant dans le cycle nutritif de la plante, recommence son rôle de solubilisation? Ce serait mettre les glucosides cyanhydriques sur le même pied que les autres glucosides, et l'hypothèse que nous avons émise pour ceux-ci s'appliquerait alors à toutes les substances glucosidiques. Loin de nous la pensée de vouloir soutenir cette opinion. Aucun fait ne nous permet d'avoir cette audace et nous devons convenir que l'opinion inverse, qui veut voir dans les glucosides cyanogénétiques des substances nutritives, semble jusqu'alors mieux défendue par les faits.

Nous devons avoir une grande reconnaissance pour TREUB dont les patientes recherches ont fait faire un grand pas au problème. Les faits qu'il a observés minutieusement nous permettent de mieux voir la route à suivre. Son hypothèse sur le rôle de l'acide cyanhydrique libre dans la formation des matières albuminoïdes reste à vérifier. Quand nous serons fixés sur la présence de l'*acide cyanhydrique libre* dans les plantes cyanogénétiques et sur les transformations des glucosides dans certaines manifestations vitales (dessiccation, formation des bulbilles d'*Alocasia*), ce jour-là, nous serons bien près de tenir la solution du problème.



## CONCLUSIONS

---

Des hypothèses et des faits exposés au cours de ce travail, il nous reste à tirer, si possible, les conclusions générales. Il y a lieu d'envisager successivement les deux points de vue essentiels auxquels nous nous sommes placé : le point de vue statique, auquel se rapporte exclusivement la localisation des alcaloïdes et des glucosides ; le point de vue dynamique, qui comprend l'étude du métabolisme de ces composés et de leur rôle biologique.

• Au point de vue statique, on peut dire qu'actuellement, il est possible de déterminer, avec précision, dans un végétal, le siège des alcaloïdes et des glucosides. Les méthodes de localisation des alcaloïdes sont d'application très générale et donnent des résultats particulièrement précis. En ce qui concerne les glucosides, on ne retrouve malheureusement pas toujours la même précision. La complexité de leur nature chimique ne permet pas l'adoption de procédés généraux, et les réactions auxquelles on a recours ne s'appliquent souvent qu'à un glucoside, ou à quelques glucosides de composition voisine. Néanmoins, nous avons vu que, souvent, les résultats obtenus atteignent, avec une rigueur suffisante, une précision parfaite.

Mais nous pensons qu'il n'y a plus grand'chose à attendre de l'application indéfinie de ces procédés de localisation ; lors même qu'ils seraient plus ou moins modifiés, on pourra joindre aux nombreux résultats déjà connus ceux de recherches consacrées à des végétaux ou à des principes non encore étudiés, mais l'accumulation de ces résultats n'ajoutera rien d'essentiel à la biochimie végétale ; ce ne sera qu'une page supplémentaire aux travaux déjà parus ; aucun fait saillant, aucune idée nouvelle, croyons-nous, n'en pourront résulter.

Au point de vue dynamique, rappelons successivement, en ce

qui concerne les alcaloïdes, puis les glucosides, de quelle façon il est possible d'envisager le rôle de ces substances.

Les alcaloïdes paraissent provenir de la désintégration des matières albuminoïdes ; mais, tandis que d'autres produits de désintégration de ces mêmes matières, comme les amino-acides, peuvent régénérer les protéiques initiaux, il n'en est pas de même des alcaloïdes. Ce fait n'est pas suffisant pour contester leur origine, car les fonctions actives de la molécule, par lesquelles cette condensation pourrait se faire, sont bloquées par le jeu de réactions secondaires et ces transformations s'opposent au retour à la forme primitive.

Leur migration au cours des différentes phases de la végétation ne permet pas non plus de leur attribuer une valeur nutritive. D'autre part, leur répartition montre qu'ils se trouvent généralement en dehors des voies de transport, dans les tissus les plus externes, ou dans les tissus de sécrétion : laticifères, cellules oxalifères, canaux sécréteurs. Ces divers tissus ne sauraient évidemment être considérés comme des tissus de réserve.

Si l'on ajoute aux remarques précédentes que les alcaloïdes semblent inutilisés au cours de la germination, que même ils apparaissent brusquement dans les graines mises à germer, on voudra bien admettre qu'il est plus rationnel de considérer les alcaloïdes comme des substances de déchet que comme des substances nutritives de réserve.

Sans doute, à faible dose, ils paraissent activer la germination ; ils sont assimilés directement par les végétaux inférieurs : algues et champignons, et peuvent l'être par des végétaux supérieurs. Mais on ne pourrait leur reconnaître, malgré cela, qu'un rôle alimentaire *conditionnel*, puisqu'ils ne sont utilisés dans la nutrition de ces végétaux que dans des cas très particuliers. Quant au rôle protecteur qu'on a assigné aux alcaloïdes, on peut en admettre l'existence, mais ce rôle n'est qu'*accidentel*.

Les gluco-alcaloïdes se comportent comme les alcaloïdes.

Les glucosides sont bien plus encore, et, pour des raisons analogues, des substances de déchet. Le glucose, ou plus généralement les sucres, jouent, dans la formation de ces substances, le rôle de solubilisateurs. Ils solubilisent la partie aromatique de la molécule, toxique pour la plante et formée au cours des échanges cellulaires. La partie aromatique ainsi neutralisée est conduite

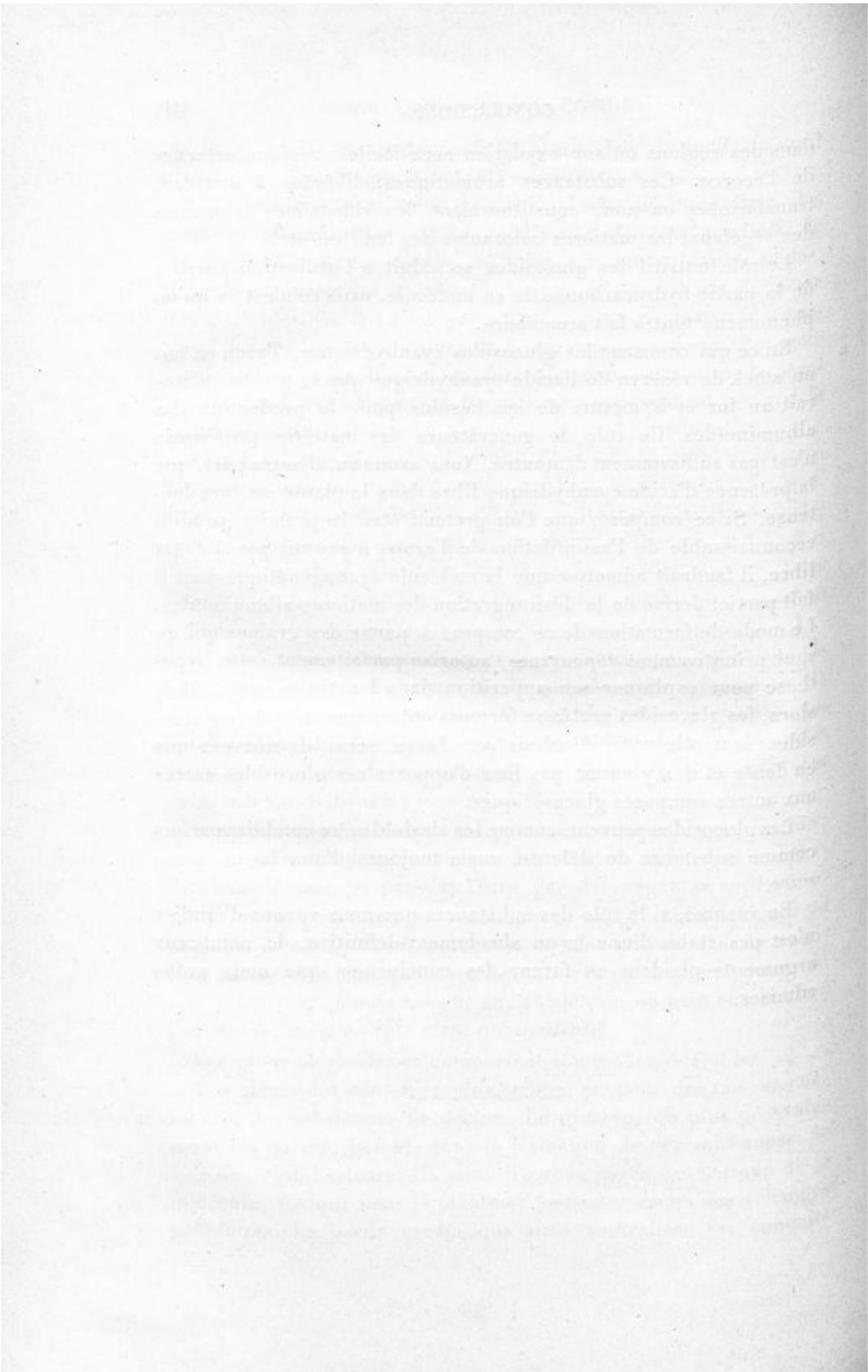
dans des régions où son oxydation sera facile : régions externes de l'écorce. Ces substances aromatiques, libérées à nouveau, transformées ou non, constitueraient les substances odorantes des végétaux, les matières colorantes des feuilles, etc.

Le rôle nutritif des glucosides se réduit à l'utilisation *possible* de la partie hydrocarbonée de sa molécule, mais ce n'est là qu'un phénomène tout à fait secondaire.

En ce qui concerne les glucosides cyanhydriques, TREUB en fait un stock de réserve de l'acide cyanhydrique que la plante utiliserait au fur et à mesure de ses besoins pour la production des albuminoïdes. Ce rôle de générateurs des matières protéiques n'est pas suffisamment démontré. Nous avons vu, d'autre part, que la présence d'acide cyanhydrique libre dans la plante est fort douteuse. Si ce composé, que l'on prétend être le premier produit reconnaissable de l'assimilation de l'azote, n'existait pas à l'état libre, il faudrait admettre que la molécule cyanogénétique dont il fait partie, dérive de la désintégration des matières albuminoïdes. Le mode de formation de ce composé à partir des graines qui en sont primitivement dépourvues, autorise parfaitement cette hypothèse pour expliquer son apparition dans les tissus verts. Mais alors, les glucosides azotés se formeraient comme les autres glucosides; leur rôle nutritif, admis par TREUB, serait de nouveau mis en doute et il n'y aurait pas lieu d'opposer ces glucosides azotés aux autres composés glucosidiques.

Les glucosides peuvent, comme les alcaloïdes, se conduire parfois comme substance de défense, mais toujours d'une façon *accessoire*.

En résumé, si le rôle des substances que nous venons d'étudier n'est pas établi d'une façon absolument définitive, de nombreux arguments plaident en faveur des conclusions que nous avons admises.



## TABLE DES PLANCHES ET FIGURES

### ABRÉVIATIONS

<p><i>alb.</i>, albumen.  <i>an.</i>, assise nutritive.  <i>a. p.</i>, assise pilifère.  <i>ac. c.</i>, assise de cellules cubiques.  <i>as. p.</i>, assise subéro-phellodermique.  <i>as. s.</i>, assise subéreuse.  <i>b.</i>, bois.  <i>c.</i>, collenchyme.  <i>c. a.</i>, cellule annexe.  <i>col.</i>, collenchyme.  <i>col.</i>, cotylédons.  <i>c. p.</i>, cellule de passage.  <i>c. s.</i>, canal sécréteur.  <i>edc.</i>, endocarpe.  <i>em.</i>, embryon.  <i>end.</i>, endoderme.  <i>ép.</i>, épiderme.  <i>épc.</i>, épicarpe.  <i>ép. i.</i>, épiderme inférieur.  <i>ép. s.</i>, épiderme supérieur.  <i>ex.</i>, exoderme.  <i>f. l.</i>, fibres libériennes.  <i>f. pér.</i>, fibres péricycliques.  <i>f. pm.</i>, fibres pérимédullaires.  <i>g.</i>, gomme.  <i>hy.</i>, hypoderme.</p>	<p><i>i.</i>, idioplaste.  <i>L.</i>, liège.  <i>l.</i>, liber.  <i>l. i.</i>, liber intra-ligneux.  <i>l. pm.</i>, liber pérимédullaire.  <i>m.</i>, moelle.  <i>o.</i>, oxalate de calcium.  <i>p. c.</i>, parenchyme cortical.  <i>pér.</i>, péricycle.  <i>ph.</i>, phelloderme.  <i>pi.</i>, poils.  <i>p. l.</i>, parenchyme ligneux.  <i>p. p.</i>, parenchyme palissadique.  <i>p. r.</i>, poils radicaux.  <i>ps.</i>, poche sécrétrice.  <i>p. s.</i>, péricycle scléreux.  <i>rad.</i>, radicule.  <i>r. m.</i>, rayons médullaires.  <i>s.</i>, suber.  <i>scl.</i>, sclérenchyme.  <i>sp.</i>, suspenseur.  <i>st.</i>, stomate.  <i>t. c.</i>, tube criblé.  <i>té.</i>, tégument.  <i>v.</i>, voile.</p>
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

### LOCALISATION DES ALCALOÏDES

#### Colchicine.

- Pl. I. — *Colchicum autumnale* L. ; 1, coupe transversale du bulbe ;  
 2, coupe longitudinale d'un faisceau libéro-ligneux ; 3, coupe  
 schématique du bulbe. (*Figures originales.*) . . . . . 42 à 43

#### Vératrine.

- Fig. 1. — *Veratrum album* L. ; répartition de la vératrine  
 dans la racine. (*Figure originale.*) . . . . . 49

#### Alcaloïdes des Amaryllidacées.

- Pl. II. — *Narcissus rugulosus* Link. ; 1, faisceau libéro-ligneux  
 de la hampe florale ; 2, tubes criblés et cellule annexe ;  
 3, coupe transversale de la hampe florale. (*Figures d'après*  
*ERRERA, MAISTRIAU et CLAUTRIAU.*) . . . . . 52 à 53

- Pl. III. — *Eucharis amazonica* Hort-Linden; 1, coupe transversale du bulbe  
*Galanthus nivalis* L.; 2, paroi ovarienne.  
*Narcissus pseudo-Narcissus* L.; 3, cellules à raphides.  
*Clivia nobilis* Lindl.; 4, cylindre central de la racine.  
 (Figures d'après R. COMOTI.) . . . . . 56 à 57

**Alcaloïde du *Dendrobium nobile* Lindl.**

- Pl. IV. *Dendrobium nobile* Lindl.; 1, racine aérienne; 2, parenchyme cortical de la tige; 3, 4, stomates et poils de la feuille; 5, faisceau libéro-ligneux de la tige. (Figures d'après EM. DE DROOG) . . . . . 62 à 63

**Alcaloïde du *Caltha palustris* L.**

- Pl. V. — *Caltha palustris* L.; 1, coupe longitudinale de la partie corticale de la tige; 2, épiderme de la feuille; 3, ovule jeune, 4, cylindre central de la racine; 5, coupe transversale de la tige (Figures 1, 2, 3, 4, d'après E. VANDERLINDEN, 5, figure originale.) . . . . . 68 à 69

**Hydrastine.**

- Pl. VI. — *Hydrastis canadensis* L., Répartition de l'hydrastine et de la berbérine dans la racine. (Figure originale.) . . . . . 76 à 77

**Berbérine.**

- Pl. VII. — *Berberis vulgaris* L.; 1, tige; 2, racine (Figures originales.) . . . . . 80 à 81

**Nupharine.**

- Pl. VIII. — *Nuphar luteum* Sibth. et Sm.; 1, parenchyme cortical de la racine; 2, cylindre central de la racine; 3, feuille; 4, faisceau libéro-ligneux du rhizome. (Figures originales.) . . . . . 84 à 85

**Alcaloïdes du *Corydalis lutea* DC.**

- Pl. IX. — *Corydalis lutea* DC.; 1, faisceau libéro-ligneux du pétiole; 2, coupe schématique du pétiole; 3, parenchyme cortical et région endodermique de la racine; 4, coupe transversale de la racine. (Figures originales) . . . . . 92 à 93  
 FIG. 2. — *Corydalis lutea* DC.; laticifères de la racine (coupe longitudinale et tangentielle). (Figure originale.) . . . . . 92  
 FIG. 3. — *Corydalis lutea* DC.; laticifères de la tige (coupe longitudinale et tangentielle). (Figure originale.) . . . . . 93

**Harmaline.**

- FIG. 4. — *Peganum Harmala* L.; 1, action de l'acide chlorhydrique concentré; 2, action de la solution de soude. (Figures d'après H. BARTH.) . . . . . 96

## Alcaloïdes des Légumineuses.

- Pl. X. — *Cytisus Laburnum* L.; 1, ovule; 2, graine. (Figures d'après P. GUÉRIN) . . . . . 104 à 105
- Pl. XI. — *Spartium junceum* L.; 1, racine. *Pithecolobium Saman* Benth.; 2 tige. (Figures d'après A. JACQUEMIN.) . . . . . 108 à 109
- Pl. XII. — *Erythrina Corallodendron* L.; 1, faisceau du rachis; 2, parenchyme cortical de la partie renflée du pétiole des folioles avec les « réservoirs à alcaloïdes »; 3, tige; 4, coupe schématique de la partie renflée du pétiole des folioles; 5, feuille; 6, parenchyme cortical de la racine. (Figures originales.) . . . . . 114 à 115

## Conicine.

- Pl. XIII. — *Conium maculatum* L.; 1, feuille; 2, tige; 3, coupe schématique du fruit; 4, coupe de la paroi du jeune fruit. (Figures originales.) . . . . . 118 à 119

## Alcaloïdes des Solanacées.

- Pl. XIV. — 1, tige de Solanée, *Atropa Belladonna* L.; 2, parenchyme ligneux de la racine; 3, assises subéreuses de la tige, *Datura Stramonium* L.; 4, graine. (Figures d'après PH. MOLLE.) . . . . . 132 à 133
- Pl. XV. — *Atropa Belladonna* L.; coupe longitudinale de la moelle de la tige, montrant l'absence d'alcaloïdes dans les fibres péri-médullaires (stéréides). (Figure originale.) . . . 134 à 135

## Alcaloïdes des Cinchona.

- Pl. XVI. — *Cinchona succirubra* Ruiz et Pav.; 1, formation du phellogène; 2, racine; 3, tube criblé et cellule annexe; 5, coupe transversale de l'extrémité de la racine; 6, coupe longitudinale de la racine; 7, feuille montrant la localisation dans l'épiderme et l'hypoderme; 8, phelloderme. *C. Ledgeriana* Moens; 4, feuille. (Figures d'après LOTSCH.) . . . 148 à 149

## LOCALISATION DES GLUCOSIDES

## Aloïnes.

- Pl. XVII. — *Aloe succotrina* Lam.; coupe schématique de la feuille et structure d'un faisceau libéro-ligneux. (Figures d'après MACQRET.) . . . . . 262 à 263

## Salicine.

- Pl. XVIII. — *Salix alba* L.; 1, tige jeune; 2, écorce âgée. (Figures d'après A. GORIS, Th. Doct.) . . . . . 264 à 265
- FIG. 5. — *Salix alba* L.; répartition de la salicine dans la feuille (Figure d'après A. GORIS, Th. Doct.) . . . . . 266

**Daphnine.**

- Pl. XIX. — *Daphne Laureola* L.; 1, tige; 2, feuille; 3, racine.  
(Figures originales). . . . . 268 à 269

**Polygonine.**

- Pl. XX. — *Polygonum cuspidatum* Sieb et Zuc.; 1, coupe schématique d'un rhizome; 2, parenchyme cortical; 3, structure anatomique du rhizome. (Figures d'après A. GORIS et L. CRÉTÉ.). . . . . 270 à 271

**Quercitrine.**

- Pl. XXI. — *Fagopyrum esculentum* Moench; 1, localisation de la matière colorante rouge de la feuille; 2, localisation du tanin de la jeune tige; 3, matière colorante de la tige âgée. (Figures d'après EM. MIEGE.). . . . . 272 à 273

**Rutine.**

- Pl. XXII. — *Ruta graveolens* L.; répartition du glucoside dans la tige. (Figure originale). . . . . 280 à 281

**Hespéridine.**

- FIG. 6. — Localisation de l'hespéridine dans les bractées du Tilleul sous l'action de la glycérine, dans les poils de *Verbascum*, les feuilles d'*Hyssopus*, les bractées du Tilleul sous l'action de l'eau bouillante. (Figures d'après O. TUNMANN.). . . . . 284

**Fustine.**

- Pl. XXIII. — *Rhus Cotinus* L.; 1, endoderme et liber du pétiole; 2, jeune rameau; 3, feuille. (Figures d'après A. GORIS, Th. Doct.). . . . . 286 à 287

**Esculine.**

- Pl. XXIV. — *Aesculus Hippocastanum* L.; 1, tige; 2, jeune feuille (germination). (Figures d'après A. GORIS, Th. Doct.). 290 à 291  
Pl. XXV. — *Aesculus Hippocastanum* L.; 1, sépale; 2, écaille du bourgeon; 3, faisceau cotylédonaire près de la radicule dans la graine germée; 4, coupe transversale d'une racine jeune. (Figures d'après A. GORIS, Th. Doct.). . . . . 292 à 293  
FIG. 7. — *Aesculus Hippocastanum* L.; coupe transversale de l'extrémité de la radicule (germination), montrant la répartition de l'esculine avant la différenciation des tissus. (Figures d'après A. GORIS, Th. Doct.). . . . . 295

- FIG. 8. — *Esculus Hippocastanum* L.; répartition de l'esculine à l'extrémité de la tigelle. (Figures d'après A. GORIS, *Th. Doct.*) . . . . . 297

#### Arbutine.

- PL. XXVI. — *Arbutus Unedo* L.; 1, tige; 3, nervure médiane de la feuille; 4, mésophylle de la feuille. *Arctostaphylos Uva-ursi* Spreng; 2, tige âgée. (Figures prêtées par R. CHEMINEAU.) . . . . . 306 à 307

#### Fraxine.

- FIG. 9. — *Fraxinus excelsior* L.; Répartition de la fraxine dans l'écorce. (Figure d'après A. GORIS, *Th. Doct.*) . . . . . 313

#### Bryonine.

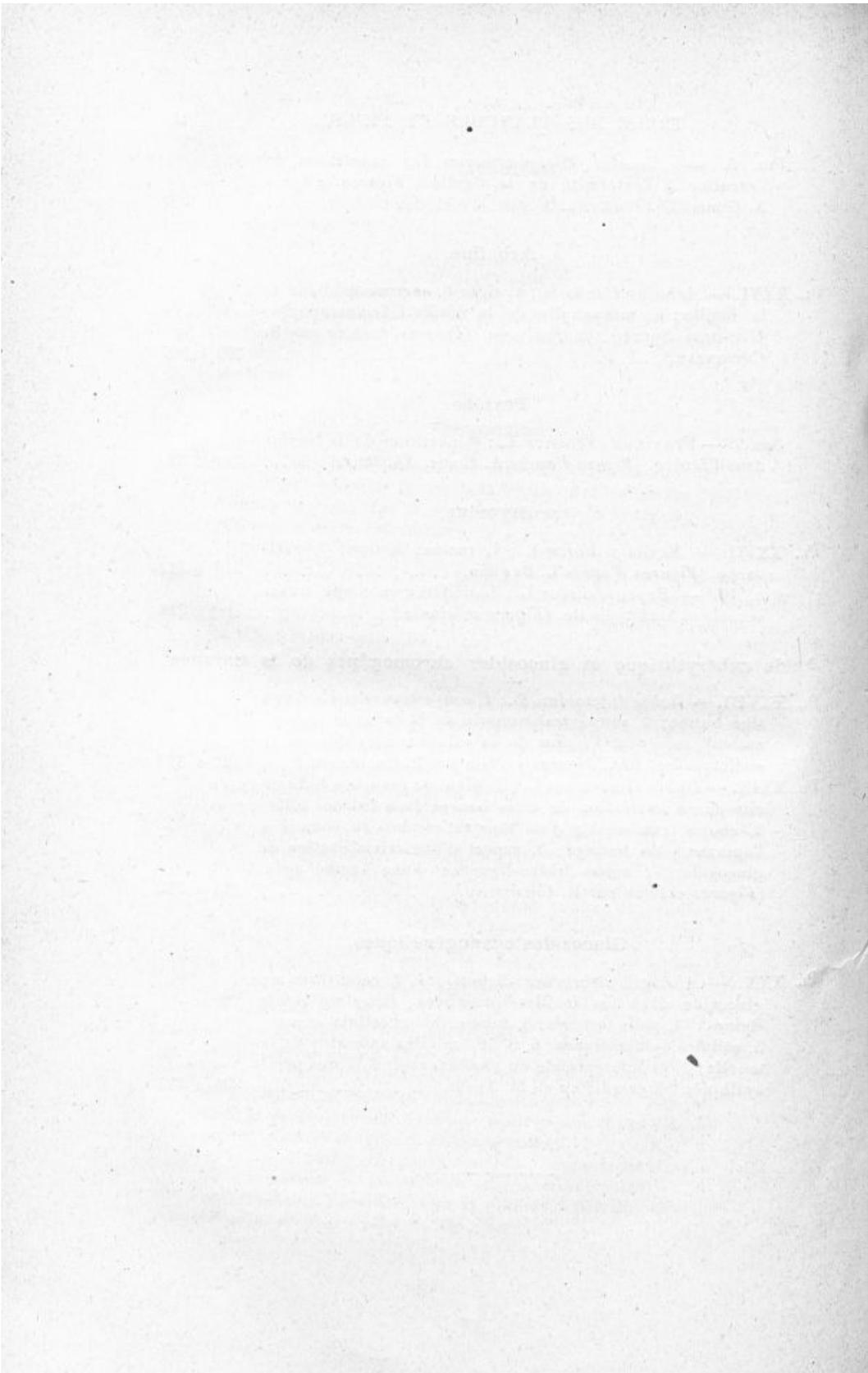
- PL. XXVII. — *Bryonia dioica* L.; 1, racine; 2, tige; 3, péricarpe. (Figures d'après L. BRÆMER.) . . . . . 316 à 317  
 FIG. 10. — *Bryonia dioica* L.; Laticifères en coupe transversale et longitudinale. (Figure originale.) . . . . . 318

#### Acide rubérythrique et glucosides chromogènes de la Garance.

- PL. XXVIII. — *Rubia tinctorium* L.; 1, coupe transversale d'une tige buttée; 2, coupe transversale de la radicule (germination) montrant l'action de la solution de chlorure de sodium à 5 p. 100. (Figures prêtées par R. CHEMINEAU.) . . . . . 322 à 323  
 PL. XXIX. — *Rubia tinctorium* L.; 1, plantule germée à l'obscurité après immersion de trois heures dans l'alcool à 95°; 2, coupe transversale d'un rameau secondaire soumis à l'opération du buttage; 3, aspect d'une cristallisation de glucoside; 4, assise libéro-ligneuse d'une racine âgée. (Figures prêtées par R. CHEMINEAU.) . . . . . 324 à 325

#### Glucosides cyanogénétiques.

- PL. XXX. — *Alocasia macrorhiza* Schott.; 1, 2, répartition du glucoside dans les feuilles panachées. *Pangium edule* Reinw.; 3, poils tecteurs; 4, tube criblé et cellule annexe; 5, cellules épidermiques; 6, 9, 10, cellules spéciales de la moelle; 7, cellule spéciale du phelloderme; 8, fibres péri-cycliques. (Figures d'après M. TREUB.) . . . . . 334 à 335



**TABLE ALPHABÉTIQUE**  
**DES ESPÈCES BOTANIQUES**

<i>Acacia Farnesiana</i> Wall . . . . .	115	<i>Anemone</i> . . . . .	276
— <i>tenerrima</i> Miq. . . . .	116	— <i>alba</i> Juss . . . . .	276
<i>Acer platanoides</i> L. . . . .	352	— <i>coronaria</i> L. . . . .	276
<i>Achillea Millefolium</i> L. . . . .	218	— <i>japonica</i> Siebet Zucc. . . . .	276
<i>Aconitum</i> . . . . .	209	— <i>nemorosa</i> L. . . . .	218, 276
— <i>Anthora</i> L. . . . .	72	— <i>pratensis</i> L. . . . .	276
— <i>Lycoctonum</i> L., 71, 72, 218		— <i>Pulsatilla</i> L. . . . .	218, 276
— <i>Napellus</i> L., 68, 72, 218, 220		— <i>ranunculoides</i> L. . . . .	276, 277
<i>Acorus Calamus</i> L. . . . .	218	<i>Apicra pentagona</i> Willd . . . . .	264
<i>Adonis æstivalis</i> L. . . . .	74, 277	<i>Arbutus Unedo</i> L. . . . .	307
— <i>vernalis</i> L. . . . .	74, 277	<i>Arctostaphylos Uva-ursi</i> Spr. . . . .	305, 306, 307, 309
<i>Æsculus Hippocastanum</i> L. . . . .	288, 291, 294, 300, 345	<i>Areca Catechu</i> L. . . . .	42, 37
<i>Æthusa Cynapium</i> L. . . . .	218	<i>Arnica montana</i> L. . . . .	218
<i>Agrostemma Githago</i> L. . . . .	345	<i>Artemisia Absinthium</i> L. . . . .	218
<i>Alocasia acuta</i> Hall. f. . . . .	394	<i>Aspergillus glaucus</i> Link, 373, 376	
— <i>macrorhiza</i> Schott. . . . .	390, 405	— <i>niger</i> V. Th. 373, 376	
<i>Aloe</i> . . . . .	262	— <i>Orizæ</i> Cohn . . . . .	376
— <i>succotrina</i> Lam. . . . .	263, 264	— <i>Ventii</i> Weh . . . . .	376
<i>Amaryllis Belladonna</i> L. . . . .	50, 58, 59	<i>Asperula odorata</i> L. . . . .	218
— <i>formosissima</i> L. . . . .	50	<i>Atropa Belladonna</i> L. 118, 129, 132, 218, 220	
<i>Amorpha fruticosa</i> L. . . . .	114	<i>Avena sativa</i> L. . . . .	4
<i>Ampelopsis</i> . . . . .	386	<i>Azalea indica</i> L. . . . .	307
— <i>hederacea</i> D.C. . . . .	381	<i>Ballota nigra</i> L. . . . .	316
<i>Amylomyces Rouzii</i> Calm. . . . .	376	<i>Baptisia australis</i> R. Br. 102, 115	
<i>Anagyris fetida</i> L. . . . .	103, 105	— <i>tinctoria</i> R. Br. . . . .	102
<i>Andromeda calyculata</i> L. . . . .	307	<i>Barosma crenata</i> Sweet . . . . .	282
— <i>Castesbæi</i> Walt. . . . .	307, 309	— <i>crenulata</i> Hook. . . . .	282
— <i>dahuricum</i> L. (?) . . . . .	309	<i>Berberis</i> . . . . .	9, 77, 225
— <i>formosa</i> Wall. . . . .	309	— <i>vulgaris</i> L. 79, 82, 176, 218	
— <i>japonica</i> Thunb. . . . .	307, 309	<i>Botrytis cinerea</i> Pers. . . . .	376
— <i>Polifolia</i> L. . . . .	307, 308, 309	<i>Brassica nigra</i> Koch . . . . .	218, 339
		<i>Brunfelsia americana</i> L. . . . .	139
		<i>Bruckenthalias piculifolia</i> Rch. . . . .	309
		<i>Bryonia dioica</i> Jacq. . . . .	316
		<i>Calamintha Acinos</i> Clairv. . . . .	282
		<i>Calluna vulgaris</i> Salisb. . . . .	218
		<i>Caltha palustris</i> L. . . . .	67, 218

N. B. — Les chiffres en italique renvoient aux chapitres concernant les méthodes de localisation des alcaloïdes et des glucosides, les chiffres romains aux chapitres de biologie.

<i>Canna</i> . . . . .	9	<i>Citrus vulgaris</i> Risso . . . . .	282
— <i>indica</i> L. . . . .	60	<i>Clematis campaniflora</i> Brot. . . . .	276
— <i>limbata</i> Rose. . . . .	60	— <i>stans</i> Sieb et Zucc. . . . .	276
— <i>læta</i> Bouché. . . . .	60	— <i>Vitalba</i> L. . . . .	276
— <i>spectabilis</i> Bouché. . . . .	60	— — var. <i>integrifolia</i> . . . . .	276
— <i>sativa</i> L. . . . .	4	<i>Clivia</i> . . . . .	13, 54
<i>Capparis spinosa</i> . . . . .	280	— <i>miniata</i> Benth.(?) . . . . .	12, 50, 55
<i>Capsella Bursa pastoris</i> Medic. . . . .	285	— <i>nobilis</i> Lindl. . . . .	50, 55, 79
<i>Capsicum annuum</i> L. . . . .	240	<i>Cocculus</i> . . . . .	9
<i>Catasetum</i> . . . . .	61	— <i>palmatus</i> DC. . . . .	9
— <i>Bungerothii</i> N. E. . . . .	64	<i>Cochlearia Armoracia</i> L. . . . .	339
Br. . . . .	64	<i>Coffea arabica</i> L. . . . .	119, 190, 209, 210, 211
— <i>discolor</i> Lindl. . . . .	64	— <i>liberica</i> Hiern, 188, 196, 199	119
— <i>Hookeri</i> Lindl. . . . .	64	<i>Cola acuminata</i> R. Br. . . . .	119
— <i>macrocarpum</i> Rich. . . . .	64	<i>Colchicum</i> . . . . .	12, 223
— <i>tabulare</i> Lindl. . . . .	63, 64	— <i>autumnale</i> L. . . . .	30, 39, 218
<i>Celtis reticulosa</i> Miq. . . . .	169	— — var. <i>flavopurpureum</i> . . . . .	45
<i>Centaurea Cyanus</i> L. . . . .	218	<i>Colchicum Bertolonii</i> Stev. . . . .	45
<i>Cephælis Ipecacuanha</i> A. Rich. . . . .	151	— <i>Bisignani</i> Ten. . . . .	45
<i>Chamælririum luteum</i> A. Gray. . . . .	344	— <i>Bivonæ</i> Guss. . . . .	45
<i>Chasmanthera palmata</i> H. Bn. . . . .	79, 82	— <i>Capani</i> Guss. . . . .	45
<i>Chavica officinarum</i> Roxb. . . . .	64	— <i>lætum</i> Stev. . . . .	45
<i>Chelidonium majus</i> L. . . . .	218	— <i>montanum</i> L. . . . .	45
<i>Chimaphyla maculata</i> Pursh. . . . .	305	— — L. var. <i>angustifolium</i> . . . . .	45
<i>Cichorium Intybus</i> L. . . . .	218	<i>Colchicum neapolitanum</i> Ten. . . . .	45
<i>Cicuta virosa</i> L. . . . .	218	— <i>persicum</i> Baker . . . . .	45
<i>Cinchona</i> . . . . .	9, 12, 142, 163, 163, 267	— <i>variegatum</i> L. . . . .	45
— <i>Calisaya</i> Wedd. . . . .	143, 149, 203	— <i>veratrifolium</i> (?) . . . . .	45
— <i>caloptera</i> Miq. . . . .	149	<i>Conium</i> . . . . .	11, 163, 209
— <i>cordifolia</i> Mut. . . . .	143, 149	— <i>maculatum</i> L. . . . .	30, 116, 172, 214, 218, 282, 283
— <i>Hasskarliana</i> Miq. . . . .	149	<i>Convallaria maialis</i> L. . . . .	218
— <i>javanica</i> (?) . . . . .	149	<i>Convolvulus arvensis</i> L. . . . .	218
— <i>Josephiana</i> Wedd. . . . .	143, 149	— <i>sepium</i> L. . . . .	79
— <i>lancifolia</i> Mut. . . . .	149	<i>Coptis Teeta</i> Wall. . . . .	287
— <i>Ledgeriana</i> Moens. . . . .	147, 149, 203	<i>Coriaria myrtifolia</i> L. . . . .	12
— <i>officinalis</i> L. . . . .	143, 149	<i>Corydalis</i> . . . . .	91
— <i>Pahudiana</i> How. . . . .	203	— <i>cava</i> Schw. . . . .	91
— <i>pitayensis</i> Wedd. . . . .	149	— <i>Halleri</i> Willd. . . . .	91
— <i>Schuckkraftii</i> Wedd. . . . .	143	— <i>lutea</i> DC. . . . .	91
— <i>succirubra</i> Pav. . . . .	143, 196, 203	— <i>ochroleuca</i> Koch. . . . .	91
<i>Citrullus Colocynthis</i> Schrad. . . . .	318, 319	— <i>pumila</i> Koch. . . . .	218
<i>Citrus</i> . . . . .	281, 282	— <i>solida</i> Sw. . . . .	329
— <i>Aurantium</i> L. . . . .	282	<i>Corynocarpus lævigata</i> Forst. . . . .	79
— <i>Bigaradia</i> Lois . . . . .	282	<i>Coscinium</i> . . . . .	399
— <i>decumana</i> Murr. . . . .	282	<i>Cotoneaster</i> . . . . .	400
— <i>Limetta</i> Risso. . . . .	282	— <i>frigida</i> Wall. . . . .	390
		— <i>microphylla</i> Wall. . . . .	390

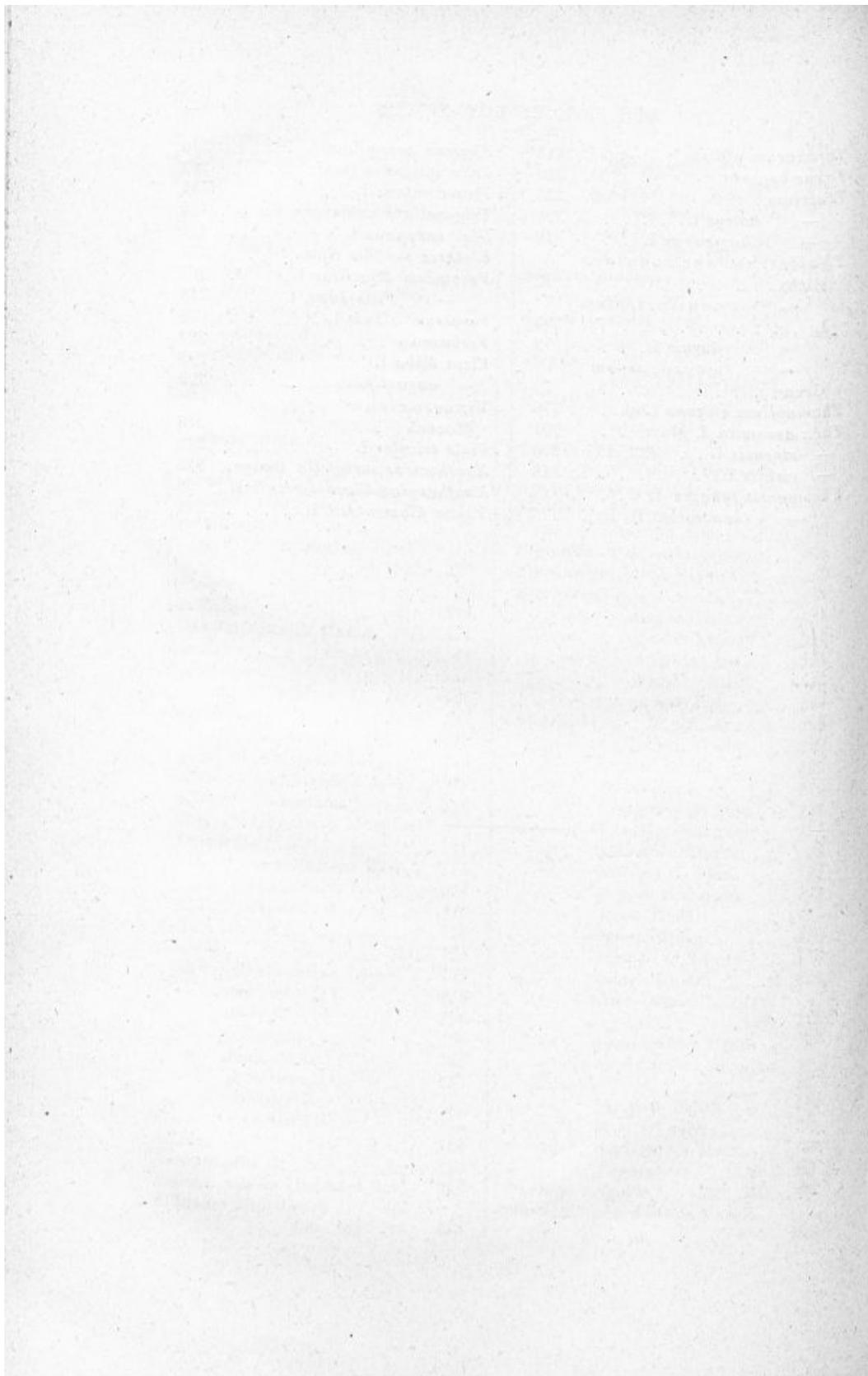
<i>Crinum americanum</i> L. . . . .	60	<i>Erythrina Crista galli</i> L. . . . .	112
— <i>longifolium</i> Roxb. . . . .	50	— <i>insignis</i> Tod. . . . .	112
<i>Crocus</i> . . . . .	226	— <i>viarum</i> Tod. . . . .	112
— <i>sativus</i> L. . . . .	264	<i>Erythrospermum phytolaccoides</i> Gärtn. . . . .	332, 403
<i>Cucurbita Pepo</i> L. . . . .	24	<i>Erythroxyton Coca</i> Lam. . . . .	94, 196
<i>Cuscuta japonica</i> Choisy . . . . .	114	<i>Eucharis amazonica</i> Hort. Linden . . . . .	60
<i>Cyclamen europæum</i> L. . . . .	346	<i>Eupatorium cannabinum</i> L. . . . .	218
<i>Cytisus Adami</i> Poit. . . . .	103, 104	<i>Fagopyrum</i> . . . . .	273, 280, 302
— <i>alpinus</i> Lam. . . . .	103, 104	— <i>esculentum</i> Moench. . . . .	256, 273, 280
<i>Cytisus Alschingeri</i> Vis. . . . .	104	<i>Fibraurea chloroleuca</i> Miers . . . . .	81
— <i>capitatus</i> Scop. . . . .	103, 104	<i>Fraxinus</i> . . . . .	310
— <i>hirsutus</i> L. . . . .	104	— <i>excelsior</i> L. . . . .	218
— <i>Laburnum</i> L. . . . .	102, 103, 218	<i>Fumaria officinalis</i> L. . . . .	218
— <i>monspessulanus</i> L. . . . .	104	<i>Galanthus nivalis</i> . . . . .	50, 57, 58, 59
— <i>purpureus</i> Scop. . . . .	104	<i>Galeopsis</i> . . . . .	315
— <i>sessilifolius</i> L. . . . .	103, 104	— <i>Tetrahit</i> L. . . . .	316
— <i>Weldenii</i> Vis. . . . .	103, 104	<i>Gaultheria procumbens</i> L. . . . .	305, 309
<i>Daphne</i> . . . . .	255	<i>Gelsemium sempervirens</i> . Ait . . . . .	128
— <i>alpina</i> L. . . . .	267, 268, 269	<i>Geoffroya</i> . . . . .	79
— <i>Gnidium</i> L. . . . .	267, 268, 269	<i>Genista</i> . . . . .	12, 101
— <i>Laureola</i> L. . . . .	256, 268, 269	— <i>canariensis</i> L. . . . .	101
<i>Datisca cannabina</i> L. . . . .	274	— <i>candicans</i> L. . . . .	102
<i>Datura</i> 11, 182, 209, 214, 221, 223		— <i>germanica</i> L. . . . .	101
— <i>Stramonium</i> L. . . . .	132, 135, 187, 203, 209, 213, 218, 225	— <i>horrida</i> D. C. . . . .	101
<i>Delphinium</i> . . . . .	11	— <i>monosperma</i> Lam. . . . .	102
— <i>Ajaxis</i> L. . . . .	66	— <i>pilosa</i> L. . . . .	101
— <i>Consolida</i> L. . . . .	66	— <i>Scorpius</i> DC. . . . .	101
— <i>grandiflorum</i> L. . . . .	66	— <i>tinctoria</i> L. . . . .	101
— <i>hybridum</i> Steph. . . . .	66	<i>Gentiana lutea</i> L. . . . .	359
— <i>Staphysagria</i> L. . . . .	65, 220	<i>Geranium</i> . . . . .	252
<i>Dematium pullulans</i> de Bary . . . . .	376	<i>Geum urbanum</i> L. . . . .	218
<i>Dendrobium</i> . . . . .	61	<i>Glaucium flavum</i> Cr. . . . .	218
— <i>Ainsworthii</i> T. Moore . . . . .	63	<i>Glechoma hederacea</i> L. . . . .	316
— <i>nobile</i> Lindl. . . . .	62, 63	<i>Globularia vulgaris</i> L. . . . .	218
<i>Dianthus</i> . . . . .	218	<i>Gratiola officinalis</i> L. . . . .	218
<i>Dieffenbachia</i> . . . . .	390, 394	<i>Gynocardia odorata</i> R. Br. . . . .	329, 394
<i>Digitalis purpurea</i> L. . . . .	218	<i>Gypsophila paniculata</i> L. . . . .	344
<i>Ecballium Elaterium</i> A. Rich. . . . .	319	<i>Hæmanthus coccineus</i> L. . . . .	60
<i>Echeveria</i> . . . . .	336	— <i>puniceus</i> L. . . . .	60
<i>Elodea canadensis</i> Michx. . . . .	381	<i>Helleborus</i> . . . . .	255
<i>Eranthis</i> . . . . .	277	— <i>antiquorum</i> A. Br. . . . .	280
— <i>hyemalis</i> Salisb. . . . .	277	— <i>brevicaulis</i> Jord. et Fourr. . . . .	280
<i>Eria</i> . . . . .	61	<i>Helleborus caucasicus</i> A. Br. . . . .	280
— <i>stellata</i> Lindl. . . . .	63	— <i>var. germanicus</i> . . . . .	280
<i>Erica</i> . . . . .	218	— <i>fætidus</i> L. . . . .	218, 280
<i>Eriobotrya japonica</i> Lindl. . . . .	397	— <i>lividus</i> Soland. . . . .	280
<i>Erythræa Centaurium</i> Pers. . . . .	218	— <i>niger</i> L. . . . .	220, 278, 280
<i>Erythrina</i> . . . . .	112	— <i>orientalis</i> Lam. . . . .	280
— <i>Corallodendron</i> L. . . . .	113, 163		

<i>Helleborus pallidus</i> Host. . . . .	280	<i>Lapinus albus</i> L. . . . .	111
— <i>viridis</i> L. . . . .	218, 280	— <i>angustifolius</i> L. . . . .	111
<i>Herniaria glabra</i> L. . . . .	344	— <i>elegans</i> H. B. et K. . . . .	30
<i>Hevea brasiliensis</i> Muell. . . . .	390	— <i>luteus</i> L. . . . .	111
<i>Hippeastrum vittatum</i> L. . . . .	60	— <i>micranthus</i> Dougl. . . . .	111
<i>Humulus Lupulus</i> L. . . . .	218	— <i>mutabilis</i> Sweet. . . . .	111
<i>Hydnocarpus alpina</i> Wight. . . . .	335	— <i>polyphyllus</i> Lindl. . . . .	111
— <i>venenata</i> Gärtn. 332, . . . . .	335	<i>Lychnis Flos-cuculi</i> L. . . . .	218
<i>Hydrastis</i> . . . . .	13, 182, 186	<i>Lycopus europæus</i> L. . . . .	218
<i>Hydrastis canadensis</i> L. . . . .	75, 79	<i>Lycoris radiata</i> Herb. . . . .	50, 51
<i>Hydrocharis Morsus-ranæ</i> L. . . . .	381	<i>Lythrum Salicaria</i> L. . . . .	282
<i>Hymenocallis adnata</i> W. Herb. . . . .	60	<i>Mahonia Aquifolium</i> Nutt. . . . .	381, 383, 387
<i>Hyoxyamus</i> . . . . .	11	<i>Manihot</i> . . . . .	327
— <i>niger</i> L. 130, 134, . . . . .	218, 225	<i>Manihot utilisissima</i> Pohl. 332, . . . . .	390, 391, 394, 403
— <i>muticus</i> L. . . . .	185	<i>Melilotus officinalis</i> Lam. . . . .	218
<i>Hyssopus officinalis</i> L. . . . .	282	<i>Mentha</i> . . . . .	282
<i>Ilex aquifolium</i> L. . . . .	218	— <i>sylvestris</i> L. . . . .	316
— <i>paraguayensis</i> St. H. . . . .	119	<i>Menyanthes trifoliata</i> L. . . . .	218, 359
<i>Indigofera galegoides</i> DC. 332, . . . . .	394, 399	<i>Menziesia polifolia</i> Juss. . . . .	309
<i>Ipomœa dissecta</i> Willd. . . . .	394	<i>Merendera</i> . . . . .	12, 44, 223
<i>Isatis tinctoria</i> L. . . . .	218	— <i>caucasica</i> Bieb. . . . .	45
<i>Isopyrum biternatum</i> Torr. . . . .	73	<i>Merendera sobolifera</i> Fisch. . . . .	45
<i>Jeffersonia diphylla</i> Pers. . . . .	81	<i>Momordica Elaterium</i> L. . . . .	225
<i>Kalmia angustifolia</i> L. . . . .	307	<i>Monilia candida</i> Bon. . . . .	376
— <i>latifolia</i> L. . . . .	307, 309	<i>Monotropa uniflora</i> L. . . . .	307
<i>Koeleruteria paniculata</i> Laxm. . . . .	345	<i>Morinda citrifolia</i> L. . . . .	322
<i>Lactuca sativa</i> L. . . . .	218	<i>Mucor mucedo</i> L. . . . .	31, 32, 376
— <i>virosa</i> L. . . . .	218	— <i>spinosus</i> V. Tgh. . . . .	376
<i>Lamium album</i> L. . . . .	316	— <i>stolonifer</i> Cohn . . . . .	376
— <i>maculatum</i> L. . . . .	316	<i>Nandina domestica</i> Thunb. . . . .	79
<i>Larix europæa</i> D C. . . . .	261	<i>Narcissus</i> . . . . .	59
<i>Lasia aculeata</i> Lour. . . . .	332	— <i>incomparabilis</i> Mill. . . . .	54
— <i>spinosa</i> Thw. . . . .	332, 394	— <i>Jonquilla</i> L. . . . .	54
<i>Lemna minor</i> L. . . . .	229	— <i>juncifolius</i> Reg. . . . .	54
<i>Leonurus tataricus</i> L. . . . .	316	— <i>poeticus</i> L. . . . .	54
— <i>villosus</i> Desf. . . . .	316	— <i>pseudo-Narcissus</i> L. . . . .	50, 51, 54, 218
<i>Leucoium</i> L. . . . .	50, 58, 59	— <i>rugulosus</i> Link. . . . .	50, 51, 54
— <i>æstivum</i> L. . . . .	58	— <i>Tazetta</i> L. . . . .	51, 54
— <i>vernum</i> L. . . . .	58	<i>Neea theifera</i> CErstedt . . . . .	119
<i>Ligustrum japonicum</i> Buch. . . . .	357	<i>Nepeta nepetoides</i> L. . . . .	316
Ham . . . . .	357	— <i>nuda</i> L. . . . .	316
— <i>lucidum</i> Buch. Ham. . . . .	357	<i>Nicandra physaloides</i> Gärtn. . . . .	139
— <i>spicatum</i> Buch. Ham. . . . .	357	<i>Nicotiana affinis</i> Hort. . . . .	204
— <i>vulgare</i> L. 218, 309, . . . . .	357	— <i>macrophylla</i> Spreng. . . . .	141
<i>Linaria vulgaris</i> Mill. . . . .	218	— <i>Tabacum</i> L. . . . .	140, 204, 218, 220
<i>Linum catharticum</i> L. . . . .	218	<i>Nigella damascena</i> L. . . . .	74
— <i>usitatissimum</i> L. . . . .	327, 397	— <i>sativa</i> L. . . . .	75
<i>Lonicera Xylosteum</i> L. . . . .	218		
<i>Lotus arabicus</i> L. . . . .	329		
<i>Lupinus</i> . . . . .	110		

<i>Nuphar luteum</i> Sibth. et Sm . . . . .	13, 84, 86, 87	<i>Populus</i> . . . . .	218, 264
<i>Nymphaea alba</i> L. . . . .	13, 84, 86	— <i>nigra</i> L . . . . .	266
<i>Oxydendron arboreum</i> DC . . . . .	307	<i>Primula officinalis</i> Jacq . . . . .	346
<i>Pancreatium illyricum</i> L. . . . .	50, 60	<i>Prunus Cerasus</i> L . . . . .	303
— <i>maritimum</i> L. . . . .	60	— <i>domestica</i> L . . . . .	303
<i>Pangium</i> . . . . .	336, 390, 399	— <i>javanica</i> Miq . . . . .	332, 333, 335, 391, 394, 403
— <i>edule</i> Reinw. 25, 330, 331, 332, 334, 391, 394		— <i>Laurocerasus</i> L. 328, 335, 336	
— <i>ceramense</i> Teysm. et Binn. . . . .	332, 335	— <i>Padus</i> L. . . . .	327, 336
<i>Papaver Rhæas</i> L. . . . .	218	— <i>virginiana</i> L . . . . .	327
— <i>somniferum</i> L. . . . .	163	<i>Pyrola umbellata</i> L . . . . .	305
<i>Paris quadrifolia</i> L. . . . .	218, 343	<i>Pyrus</i> . . . . .	305
<i>Passiflora</i> . . . . .	331, 335, 390	— <i>communis</i> L . . . . .	303
— <i>cærulea</i> L. . . . .	399	— <i>Malus</i> L . . . . .	303
— <i>fœtida</i> L. . . . .	391, 394	<i>Quercus sessiliflora</i> Salisb . . . . .	352
— <i>minima</i> L. . . . .	390	<i>Quillaja Saponaria</i> Mol. . . . .	346
<i>Paullinia sorbilis</i> Mart. . . . .	119	<i>Ranunculus acris</i> L. . . . .	218, 228
<i>Pavia rubra</i> Moench . . . . .	300	— <i>bulbosus</i> L. . . . .	218
<i>Peganum Harmala</i> L. . . . .	12, 95	— <i>Flammula</i> L . . . . .	218
<i>Penicillium glaucum</i> Link. 373, 376		— <i>sceleratus</i> L . . . . .	218
<i>Pernettya nigrans</i> Hort (?) . . . . .	309	<i>Retama monosperma</i> Boiss . . . . .	101
— <i>repens</i> Zoll . . . . .	307	— <i>sphaerocarpa</i> Boiss . . . . .	101
<i>Petunia violacea</i> Lindl. . . . .	137	<i>Rhamnus</i> . . . . .	218, 256
<i>Phalænopsis</i> . . . . .	61	— <i>Alaternus</i> L . . . . .	301
— <i>Lueddemanniana</i> Rehb. . . . .	63	— <i>Billiardi</i> Hort. . . . .	301
<i>Phaseolus</i> . . . . .	331, 336	— <i>caroliana</i> Wall . . . . .	301
— <i>lunatus</i> L. . . . .	327, 332, 335, 390, 391, 392, 394, 406	— <i>cathartica</i> L . . . . .	301
— <i>multiflorus</i> Wild. . . . .	231	— <i>chlorophora</i> Desne. 301, 302	
<i>Photinia serrulata</i> Lindl. 390, 396, 400		— <i>Frangula</i> L. . . . .	300, 301
<i>Phycomyces nitans</i> Kütz . . . . .	376	— <i>infectoria</i> L. . . . .	300, 301
<i>Physalis Alkekengi</i> L. . . . .	137	— <i>pumila</i> L. . . . .	301
<i>Physostigma venenosum</i> Balf. 12, 108, 209		— <i>Purshiana</i> DC .300, 301	
<i>Pilocarpus</i> . . . . .	193	— <i>tinctoria</i> W. . . . .	300
— <i>Jaborandi</i> Holmes. 97, 282		— <i>utilis</i> Desne . . . . .	302
— <i>pennatifolius</i> Lem. 97, 187		<i>Rhinanthus major</i> Ehrh . . . . .	218
<i>Piper nigrum</i> L. . . . .	64	<i>Rhododendron chrysanthum</i> L. 307	
<i>Pisum sativum</i> L. . . . .	4	— <i>hirsutum</i> L . . . . .	309
<i>Pithecolobium Saman</i> Benth. . . . .	107	— <i>hybridum</i> Ker-Gawl . . . . .	307
<i>Platanus occidentalis</i> L. . . . .	352	— <i>javanicum</i> Benn. . . . .	307
<i>Plectronia dicoca</i> Brek. . . . .	403	— <i>maximum</i> L. . . . .	307
<i>Rodophyllum</i> . . . . .	79	— <i>ponticum</i> L . . . . .	307
<i>Polygala Senega</i> L. . . . .	345	<i>Rhus Cotinus</i> L . . . . .	286, 287
<i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc. . . . .	256, 270, 272, 301	<i>Ribes</i> . . . . .	399
		<i>Rosa canina</i> L. 381, 383, 384, 387	
		<i>Rubia perigrina</i> L. . . . .	325
		— <i>tinctorum</i> L. . . . .	320, 322, 323, 325
		<i>Rumex obtusifolius</i> L. . . . .	272

<i>Rumex Patientia</i> L. . . . .	381	<i>Solanum Lycopersicum</i> L. . . . .	240
<i>Ruta graveolens</i> L. . . . .	273, 280, 281	— <i>Melongena</i> L. . . . .	240
<i>Sabadilla</i> . . . . .	12	— <i>nigrum</i> L. . . . .	156, 218, 240
— <i>officinarum</i> Brandt . . . . .	54	— <i>sodomeum</i> L. . . . .	240, 241
<i>Salix</i> . . . . .	218, 264, 361	— <i>tuberosum</i> L. . . . .	158, 218, 239, 240, 241, 242
— <i>alba</i> L. . . . .	266, 267, 361	<i>Sophora japonica</i> L. . . . .	280, 302
— <i>Caprea</i> L. . . . .	266	— <i>tomentosa</i> L. . . . .	102, 115
— <i>Helix</i> . . . . .	361, 366	<i>Sorbus latifolia</i> Pers. . . . .	381, 383, 387
— <i>purpurea</i> L. . . . .	366, 369	<i>Sorghum halepense</i> Pers. . . . .	390
— <i>viminalis</i> L. . . . .	266	— <i>vulgare</i> Pers. . . . .	328, 392, 394
<i>Salpiglossis sinuata</i> Ruiz et Pav. . . . .	138	<i>Spartium</i> . . . . .	12, 101
<i>Sambucus</i> . . . . .	336, 399	— <i>junceum</i> L. . . . .	101
— <i>Ebulus</i> L. . . . .	13, 153	<i>Spiræa Aruncus</i> L. . . . .	390
<i>Sambucus nigra</i> L. . . . .	328, 332, 394, 399	— <i>paniculata</i> Willd. . . . .	381, 383
<i>Sapindus utilis</i> Trab. . . . .	345	<i>Spirogyra crassa</i> Kütz. . . . .	30, 234
<i>Saponaria officinalis</i> L. . . . .	218, 344	<i>Sprekelia formosissima</i> L. . . . .	60
<i>Sarothamnus</i> . . . . .	12	<i>Stipa leptostachya</i> Griseb. . . . .	395
— <i>scoparius</i> Koch. . . . .	99, 101, 218	<i>Sterculia acuminata</i> Beauv. . . . .	209
<i>Satureia</i> . . . . .	282	<i>Sternbergia lutea</i> Ker-Gawl. . . . .	60
<i>Saxifraga</i> . . . . .	218	<i>Strophanthus</i> . . . . .	255
<i>Scopolia japonica</i> Maxim. . . . .	130, 136	— <i>asper</i> Oliver . . . . .	315
<i>Scorzonera</i> . . . . .	261	— <i>gratus</i> Franch. . . . .	315
<i>Scrophularia</i> . . . . .	218	— <i>hispidus</i> D C . . . . .	314
— <i>nodosa</i> L. . . . .	282, 285	— <i>Kombe</i> Oliver. . . . .	314
<i>Scutellaria</i> . . . . .	315	— <i>minor</i> Pax . . . . .	314
— <i>alpina</i> L. . . . .	316	<i>Strychnos</i> . . . . .	10, 11, 12, 123, 220
— <i>altissima</i> L. . . . .	316	— <i>Castelnezi</i> Wedd . . . . .	129
— <i>galericulata</i> L. . . . .	316	— <i>cogens</i> Benth. . . . .	129
— <i>hastæfolia</i> L. . . . .	316	— <i>colubrina</i> L. . . . .	126
— <i>japonica</i> Morr et Desne. . . . .	316	— <i>Crevauxii</i> G. Plan. . . . .	129
— <i>lanceolaria</i> Miq. . . . .	315	— <i>Gaultheriana</i> Pierre. . . . .	126
— <i>laterifolia</i> L. . . . .	316	— <i>glaucina</i> Pierre. . . . .	126
— <i>viscida</i> Spreng. . . . .	316	— <i>Gubleri</i> G. Plan. . . . .	129
<i>Sedum acre</i> L. . . . .	218	— <i>guyanensis</i> Aubl. . . . .	129
<i>Senecio</i> . . . . .	11, 155	— <i>Icaja</i> Baill. . . . .	127
— <i>adonidifolius</i> Loisel . . . . .	155	— <i>Ignatii</i> Berg . . . . .	126
— <i>Cineraria</i> D C . . . . .	155	— <i>ligustrina</i> Blume . . . . .	126
— <i>erucæfolius</i> L. . . . .	155	— <i>minor</i> Blume . . . . .	126
— <i>paludosus</i> L. . . . .	155	— <i>Nux-vomica</i> L. . . . .	126, 209, 215
— <i>Jacobæa</i> L. . . . .	155	— <i>pedunculata</i> Benth. . . . .	129
— <i>sylvaticus</i> L. . . . .	155	— <i>Schomburgkiana</i> Klotsch. . . . .	129
— <i>viscosus</i> L. . . . .	155	— <i>toxifera</i> Benth. . . . .	129
— <i>vulgaris</i> L. . . . .	155	— <i>Tieute</i> Lesch . . . . .	129
<i>Silene</i> . . . . .	218	— <i>triplinervia</i> Mart . . . . .	129
<i>Sinapis alba</i> L. . . . .	218	— <i>Yapurensis</i> G. Plan. . . . .	129
<i>Smilax medica</i> Cham. et Schl. . . . .	343	<i>Syringa vulgaris</i> L. . . . .	309, 310, 357
<i>Solanum Dulcamara</i> L. . . . .	156, 159, 161, 218, 240	<i>Taraktogenos Blumei</i> Hassk. . . . .	394, 403

<i>Taraxacum officinale</i> Wigg. . . . .	218	<i>Thymus Serpyllum</i> L. . . . .	316
<i>Taxus baccata</i> . . . . .	35, 218	<i>Tilia sylvestris</i> Desf . . . . .	283
<i>Teucrium</i> . . . . .	282, 315	<i>Trapa natans</i> L . . . . .	381
— <i>Botrys</i> L. . . . .	316	<i>Trigonella Fœnum-græcum</i> L. . . . .	4
— <i>Chamædrys</i> L. . . . .	316	<i>Ulex europæus</i> L . . . . .	102
<i>Thalictrum anemonoides</i>		<i>Ulothrix subtilis</i> Kütz (?) . . . . .	234
Michx. . . . .	72	<i>Vaccinium Myrtillus</i> L. . . . .	305
— <i>aquilegifolium</i>		— <i>Vitis-Idæa</i> L . . . . .	218
L . . . . .	73, 390	<i>Veratrum album</i> L. . . . .	48
— <i>flavum</i> L. . . . .	72	<i>Verbascum</i> . . . . .	282
— <i>macrocarpum</i>		<i>Vicia Faba</i> L . . . . .	282
Gren . . . . .	72	— <i>angustifolia</i> L. . . . .	329
<i>Thamnidium elegans</i> Link. . . . .	376	<i>Vincetoxicum officinale</i>	
<i>Thea assamica</i> J. Mast. . . . .	201	Moench. . . . .	218
— <i>sinensis</i> L. . . . .	122, 196, 200	<i>Viola tricolor</i> L . . . . .	282
— <i>viridis</i> L. . . . .	119	<i>Xanthoceras sorbifolia</i> Bunge. . . . .	345
<i>Thermopsis fabacea</i> D C. . . . .	115	<i>Xanthoxylum Clava-Herculis</i> L. . . . .	79
— <i>lanceolata</i> R. Br . . . . .	115	<i>Yucca filamentosa</i> L. . . . .	344



## TABLE DES AUTEURS

- G. ALBO : Sui principi alcaloidici dei semi di Tabacco. *Bull. Soc. Bot. ital.*, Firenze, 161-168, 1902.
- G. ALBO : Sulla funzione fisiologica della Solanina. *Contrib. alla biol. veget.*, Palermo, 2, 193-209, 1899.
- G. ALBO : Sur la signification physiologique de la colchicine dans les différentes espèces de *Colchicum* et de *Merendera*. *Arch. d. Sc. phys. et nat. de Genève*, 12, 227-236, 1901.
- G. ALBO : La signification physiologique de la nicotine dans le Tabac. *Arch. d. Sc. phys. et nat. Genève*, 15, 579, 1903 ; Sul significato fisiologica della nicotina nelle piante di Tabacco. *Contrib. alla Biol. veget.*, Palermo, 3, 69-89, 1903 ; résumé français, 90-91.
- G. ALBO : Alcune considerazioni sul significato fisiologica degli alcaloidi vegetali. *Nuovo Giorn. bot. ital.*, 9, 285-300, 1902.
- P. ANEMA : De zetel der Alkaloiden bij enkele narkotische Planten. Proefschrift. Utrecht, 1892. *Nederl. Tijdschr. voor Pharm.*, 4, 210-216, 227-231, 1892 ; analyse : *Jahr. d. Pharm.*, 27, 197-198, 1892.
- L. ARNOULD et A. GORIS : Action du réactif sulfovanillique de RONCERAY sur quelques composés chimiques et quelques végétaux. *Bull. Sc. Pharmacol.*, 16, 191-197, 1909.
- GIUSEPPE ASTOLFONI : Ricerche farmacognostiche e microchimiche nel rizoma d'*Hydrastis canadensis* L. *Boll. chim. farm.*, 43, 117-122, 1904.
- AUDEMARD : Présence et localisation des alcaloïdes dans les organes floraux du *Spartium junceum* L. *Bull. Pharm. Sud-Est*, 7, 40-42, 1902.
- AUDEMARD : Recherches sur la localisation des alcaloïdes dans les Genêts. *Th. Doct. Univ. Pharm.*, Montpellier, 1902.
- HERMANN BARTH : Studien über den mikrochem. Nachweis von Alkaloiden in Arzneydrogen. *Arch. d. Pharm.*, 236, 354-367, 1898 ; *Dissert.* Zurich, 1898.
- H. BAUMANN : Ueber Solanin. *Arch. d. Pharm.*, 34, 23-37, 158-167, 1843.
- A. BERG : Etude chimique et physiologique de l'*Élaterium*. Toulouse, 1913.
- H. BEHRENS : Anleitung zur mikrochemischen Analyse der wichtigsten organischen Verbindungen, 4, 14, 1897.
- BERTHIER : Des produits fournis à la Matière Médicale par les genres *Rumex* et *Rheum*. (Manuscrit pour le prix MENIER, déposé à la Bibliothèque de l'Ecole de Pharmacie de Paris), 1899.
- G. BERTRAND : La vicianine, nouveau glucoside cyanhydrique contenu dans les graines de Vesce. *C. R. Ac. Sc.*, 143, 832-834, 1906 ; *Bull. Sc. Pharmacol.*, 14, 65-68, 1907.
- BRULAYGUE : Du *Sapindus utilis* et des différentes saponines. *Th. pharm.*, Montpellier, 1896.
- A. BLANC : Essai sur la localisation des principes actifs dans le *Sambucus Ebulus* L. *Bull. Pharm. Sud-Est*, 10, 25-40, 93-100, 1905.
- A. BLANC : L'Hiéble (*Sambucus Ebulus* L.). Etude pharmacologique. *Th. Doct. Univ. Pharm.*, Montpellier, 1905.

- BEDEKER : Chemisch-physiologische Untersuchung einiger Stoffe aus der Menispermee. *Ann. d. Chem. u. Pharm.*, **69**, 37-62, 1849.
- G. BÖLLING : Beiträge zur Kenntnis einiger alkaloidhaltiger Pflanzen mit Berücksichtigung ihrer Anatomie und des mikrochemischen Nachweises ihrer Alkaloide *Dissert.*; Erlangen, 1900.
- BORSCHOW : Beiträge zur Histochemie der Pflanzen. *Bot. Zeit.*, **32**, 17-25, 33-40, 1874.
- BOUCHARDAT : De l'action qu'exercent sur les végétaux les produits organiques ou inorganiques qui sont des poisons pour les animaux. *C. R. Ac. Sc.*, **17**, 112-120, 1843.
- BOUCHARDAT : Sur la fermentation saccharine ou glucosique. *Ann. Chim. Phys.*, (3<sup>e</sup> série), **14**, 61-68, 1845.
- BOUCHARDAT : De l'influence du sol relativement à l'action des poisons sur les plantes. *C. R. Ac. Sc.*, **22**, 674-675, 1846.
- EM. BOURQUELOT et EM. DANJOU : Sur la « Sambunigrine », glucoside cyanhydrique nouveau, retiré des feuilles du Sureau noir. *Journ. Pharm. Chim.*, (6<sup>e</sup> série), **22**, 385-391, 1905.
- EM. BOURQUELOT et J. VINTILESCO : Sur les variations des proportions d'oleuropéine dans l'olive, depuis son apparition jusqu'à sa maturité. *Journ. Pharm. Chim.*, (7<sup>e</sup> série), **1**, 292-296, 1910.
- EM. BOURQUELOT et M<sup>lle</sup> FICHTENHOLZ : Nouvelles recherches sur le glucoside des feuilles de Poirier; son rôle dans la production des teintes automnales de ces organes. *Journ. Pharm. Chim.*, (7<sup>e</sup> série), **3**, 1-13, 1911.
- BOUSSINGAULT : De la végétation dans l'obscurité. *Ann. Sc. nat. Bot.* (5<sup>e</sup> série), **1**, 323, 1864, note 2.
- L. BRAEMER : Sur la localisation des principes actifs dans les Cucurbitacées. *C. R. Ac. Sc.*, **117**, 753-755, 1893.
- L. BRMER : De la localisation des principes actifs des Cucurbitacées. Recherches histologiques et histochimiques. Toulouse, 1893.
- L. BRMER : Les réactions histochimiques et l'hespéridine. *Assoc. franç. avanc. des Sc.*, Besançon, 482-484, 2 fig., 1893, 2<sup>e</sup> partie.
- M. BRIDEL : Variations dans la composition de la racine de Gentiane au cours de la végétation d'une année. *Journ. Pharm. Chim.* (7<sup>e</sup> sér.), **3**, 294-305, 1911.
- M. BRIDEL : Variations dans la composition du Trèfle d'eau (plante entière) au cours de la végétation d'une année. *Journ. Pharm. Chim.*, (7<sup>e</sup> sér.), **7**, 524-535, 1913.
- BRUNNICH : Hydrocyanic Acid in Fodder-plants. *Journ. of the Chem. Soc. London*, **83**, 788-796, 1903.
- A. BRUNSTEIN : Ueber Spaltungen von Glycosiden durch Schimmelpilze. *Beih. z. Bot. Centralbl.*, **10**, 1-50, 1901.
- J. CHATIN : Du siège des substances actives dans les plantes médicinales. 173 pages in-8°, Paris, 1876.
- E. CHARABOT et A. HÉBERT : Recherches sur le mécanisme de l'éthérisation chez les plantes. *Bull. Sc. Pharmacol.*, **3**, 356-364, 1901.
- A. CHARPENTIER : Remarques et expériences sur l'anesthésie sur l'anesthésie et de la germination par la cocaïne. *C. R. Soc. Biol.* (8<sup>e</sup> sér.), **2**, 83-85, 1885.
- A. CHARPENTIER : Action du chlorhydrate de cocaïne sur la fermentation alcoolique et sur la germination, *C. R. Soc. Biol.*, (8<sup>e</sup> sér.), **2**, 17-19, 1885.
- J.-B. CHARPENTIER : Etude anatomique et microchimique des Quinquinas de culture, 50 pages in-8°. *Th. Doct. Univ. Pharm.*, Paris, 1900.
- R. CHEMINEAU : Recherches microchimiques sur quelques glucosides. *Th. Doct. Univ. Pharm.*, Paris, 1904.

- J. CHEVALIER : Influence de la culture sur la teneur en alcaloïdes de quelques Solanées. *C. R. Ac. Sc.*, **150**, 344-346, 1910.
- J. CHEVALIER : Variation de la teneur en spartéine du Genêt à balais suivant l'époque de la végétation. *C. R. Ac. Sc.*, **150**, 1069-1071, 1910.
- CHUARD et MELLET : Variation de la proportion de nicotine dans les divers organes de la plante du Tabac au cours de la végétation. *C. R. Ac. Sc.*, **155**, 293-295, 1912.
- G. CLAUTRIAU : L'azote dans les capsules de Pavots. *Bull. Soc. belge de Microsc.*, **18**, 80-93, 1892; *Recueil Inst. bot. ERRERA*, **2**, 253-265, 1906.
- G. CLAUTRIAU : Localisation et signification des alcaloïdes dans quelques graines. *Ann. Soc. belge de Microsc.*, **18**, 35-54, 1894; *Recueil Inst. bot. ERRERA*, **2**, 265-280, 1906.
- G. CLAUTRIAU : Nature et signification des alcaloïdes végétaux. *Ann. Soc. roy. des Sc. méd. et nat. de Bruxelles*, **9**, fasc. 2, 113 pages, 1900; *Recueil Inst. bot. ERRERA*, **5**, 1-87, 1902.
- G. CLAUTRIAU : Recherches microchimiques sur la localisation des alcaloïdes dans le *Papaver somniferum* L. *Ann. Soc. belge de Microsc.*, **12**, 67-85, 1889; *Recueil Inst. bot. ERRERA*, **2**, 237-251, 1906.
- G. CIAMICIAN et C. RAVENNA : Sul contegno di alcune sostanze organiche nei vegetali. *Gaz. chim. ital.*, **38** (1), 682-697, 1908; *Acc. d. Scienze dell'Istituto di Bologna* (6<sup>e</sup> sér.), **5**, 29-40, 1907-1908; **6**, 109-120, 1908-1909.
- G. CIAMICIAN et C. RAVENNA : Sintesi della salicina per mezzo della piante. *Rendiconti d. r. Acc. dei Lincei*. (5<sup>e</sup> sér.), **18** (1), 419-422, 1909.
- G. CIAMICIAN et C. RAVENNA : Su la formazione dei glucosidi per mezzo della piante. *Rendiconti d. r. Acc. dei Lincei*, (5<sup>e</sup> sér.), **18** (2), 594-596, 1909.
- G. CIAMICIAN et C. RAVENNA : Recherches sur la genèse des alcaloïdes dans les plantes. *Association française pour l'Avanc. des Sciences*, Congrès Dijon, 197-200, 1911.
- G. CIAMICIAN et C. RAVENNA : Ricerche sulla genesi degli alcaloidi nelle piante. *Rendiconti d. r. Acc. dei Lincei*, **20** (1), 614-624, 1911.
- G. CIAMICIAN et C. RAVENNA : Recherches sur la genèse des alcaloïdes dans les plantes. *Ann. Chim. Phys.*, (8<sup>e</sup> sér.), **25**, 404-421, 1912.
- R. COMBES : Etude botanique des plantes à saponine. (Manuscrit pour le prix MENIER, déposé à la Bibliothèque de l'Ecole de Pharmacie de Paris), 1906.
- R. COMBES : Sur une méthode générale des recherches microchimiques, et son application à l'étude de la répartition des saponines chez les végétaux. *C. R. Ac. Sc.*, **145**, 1431-1433, 1907.
- R. COMBES : Rapports entre les composés hydrocarbonés et la formation de l'anthocyane. *Ann. Sc. nat.* (3<sup>e</sup> sér.), **9**, 275-303, 1909.
- R. COMBES : Les échanges gazeux des feuilles pendant la formation et la destruction des pigments anthocyaniques. *Rev. gén. de Bot.*, **22**, 177-212, 1910.
- R. COMBES : Recherches sur la formation des pigments anthocyaniques. *C. R. Ac. Sc.*, **153**, 886-889, 1911.
- R. COMBES : Production expérimentale d'une anthocyane identique à celle qui se forme dans les feuilles rouges en automne, en partant d'un composé extrait des feuilles vertes. *C. R. Ac. Sc.*, **157**, 1002-1004, 1913.
- C. COMÈRE : Du rôle de l'alcaloïde dans la nutrition des Algues. *Bull. Soc. Bot. de France*, (4<sup>e</sup> sér.), **10**, 277-280, 1910.
- L. CONRAD : Recherches botaniques et chimiques sur deux graines de la famille des Sapindacées (*Xanthoceras sorbifolia* Bunge et *Kalreuteria paniculata* Laxm.). *Th. Doct. Univ. Sc.*, Paris, 1913.

- CH. CORNEVIN : Action des poisons sur la germination des graines des végétaux dont ils proviennent, *C. R. Ac. Sc.*, **113**, 274-276, 1891.
- R. COMOTTI : Recherches sur la localisation des alcaloïdes dans les Amaryllidacées. *Th. Doct. Univ. Pharm.*, Paris, 52 pages in-8°, 2 pl. col., 1910.
- E. COUPEROT : Pertes en nitrates et en acide cyanhydrique chez les plantes qui en renferment, pendant la dessiccation. *Journ. Pharm. Chim.*, (6<sup>e</sup> sér.), **29**, 100-102, 1909.
- E. CRATO : Gedanken über die Assimilation und die damit verbundene Sauerstoffausscheidung. *Ber. d. d. bot. Gesell.*, **10**, 250-256, 1892.
- M<sup>lle</sup> LUISA CUOGHI-COSTANTINI : Nuove ricerche sulla localizzazione microchimica di alcaloidi e glucosidi in alcune « Ranunculacee ». *Atti del reale Istituto Veneto di scienze lettere ed arti*, **71**, 1159-1172, 1911-1912.
- CZAPECK : Der Stickstoff im Stoffwechsel der Pflanze. *Ergebnisse der Physiologie*, **3**, 1 part. Biochemie, 309-331, 1904.
- DEHÉRAIN : Nutrition de la plante. *Encyclopédie chimique de FRÉMY*, **82**, 22. Paris, 1885.
- MAC DOUGAL : A contribution to the physiology of the root tubers of *Isopyrum biternatum* Torr. *Minnesota Bot. Studies*, 501-516, 2 pl., 1896.
- EM. DE DROOG : Contribution à l'étude de la localisation microchimique des alcaloïdes dans la famille des Orchidacées. *Mémoires couronnés et autres Mémoires publiés par l'Acad. roy. de Belgique*, **45**, 30 p., 1896; *Recueil Inst. bot.* ERRERA, **2**, 347-373, 1 pl. col., 1906.
- M<sup>me</sup> DUCHER : Etude botanique des plantes à saponine. (Manuscrit pour le prix MENIER, déposé à la Bibliothèque de l'Ecole de Pharmacie de Paris), 1906.
- DULONG D'ASTAFFORT : Analyse chimique de la racine de Bryone. *Journ. Pharm.* (2<sup>e</sup> sér.), **12**, 154-156, 1826.
- W. R. DUNSTAN et T. A. HENRY : The nature and origine of the poison of *Lotus arabicus* L. *Philos. Trans. of the roy. Soc. London*, (sér. B), **194**, 515-553, 1901; *Proc. roy. Soc. London*, **68**, 374-378, 1901.
- W. R. DUNSTAN et T. A. HENRY : The great millet, *Sorghum vulgare* Pers. *Philos. Trans. of the roy. Soc. of London*, (sér. A.), **199**, 399-410, 1902; *Proc. roy. Soc. London*, **70**, 153-154, 1902.
- W. R. DUNSTAN et T. A. HENRY : On Phaseolunatin, the cyanogenetic glucoside of *Phaseolus lunatus* L. *Proced. roy. Soc. London*, **72**, 285-294, 1903-1904.
- M. ELFSTRAND : Studier öfver Alkaloidernas lokalisation företrädesvis inom familjen Loganiaceæ, Upsala, 1895.
- L. ERRERA : Un ordre de recherches trop négligé. L'efficacité des structures défensives des plantes. *Bull. Soc. roy. de Bot. de Belgique*, **25**, 86-104, 1886; *Recueil d'œuvres de L. ERRERA*. Bot. générale, I. 209-311, Bruxelles, 1908.
- L. ERRERA, MAISTRIAU et G. CLAUTRIAU : Premières recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes dans les plantes. *Bull. Ac. roy. de Belgique*, **13**, 272-275, 1887; *Recueil Inst. bot.* ERRERA, **2**, 147-183, 1 pl. col., 1906; *Bull. Soc. belge de Microsc.*, **12**, 5-46, 1885-86; *Journ. de Méd., Chirurg. et Pharm. de Bruxelles*, **85**, 97-112, 152-155, 1887.
- L. ERRERA : Sur la distinction microchimique des alcaloïdes et des matières protéiques. *Ann. Soc. belge de Microsc.*, **13**, 73-121, 1889; *Recueil Inst. bot.* ERRERA, **2**, 189-227, 1906.
- JOS. ESSMANOFFSKY : Untersuchung der Saftgänge und der ihnen vorkommenden eigenthümlichen Niederschläge bei *Canna*. *Mittheil. der Warschauer Univ.* N° 2, 1879, analyse. *Just. : Bot. Jahresber.*, **7**, 1 Abth., 10, 1879.

- FELDDHAUS : Quantitative Untersuchung über die Verteilung des Alkaloides in den Organen von *Datura Stramonium* L. *Arch., d. Pharm.*, **243**, 328-348, 1905; *Dissert.*, Marburg, 94 p., 1903.
- J. GADAMER : Ueber die biologische Bedeutung und Entstehung der Alkaloide. *Ber. d. d. pharm. Gesell.*, **24**, 35-55, 1914.
- L. GAUCHER : De la caféine et de l'acide cafétannique dans le caféier (*Coffea arabica* L.) Recherches microchimiques. *Thèse Pharm.*, Montpellier, 1895.
- GERRARD : Cité par LEWIN traduct. et ann. par POUCHET. *Traité de Toxicologie*. Paris, 774, 1903.
- GEROCK et SKIPPARI : Ueber den Sitz der Alkaloide in Strychnosamen. *Archiv. d. Pharm.*, **230**, 555-560, 1892.
- E. GILSON : Les principes actifs de la Rhubarbe. *Rev. pharm. des Flandres*, **4**, 169-175, 1898.
- E. GILSON : Les tannoïdes de la Rhubarbe de Chine. *La Cellule*, **20**, 371-414, 1902-1903.
- E. GILSON : Les principes actifs de la Rhubarbe de Chine. *Mém. de l'Ac. roy. de médecine de Belgique*, **17**, 1905; *Arch. intern. de Pharmacodyn.*, **14**, 455-503, 1905.
- H. R. GOEPPERT : Recherches sur l'action de l'acide hydrocyanique et de quelques autres substances sur les plantes. *Ann. Sc. nat. Bot.* (1<sup>re</sup> sér.), **14**, 384-394, 1828.
- H. R. GOEPPERT : Sur l'irritabilité des filets des étamines du *Berberis vulgaris* L. *Ann. Sc. nat. Bot.* (1<sup>re</sup> sér.), **15**, 69-83, 1828.
- A. GORIS : Les Aconits (Manuscrit pour les prix MENIER, déposé à la Bibliothèque de l'Ecole de Pharmacie de Paris), 1897.
- A. GORIS et M. N. REIMERS : Recherches microchimiques sur les Quinquinas. *Bull. Sc. Pharmacol.*, **3**, 284-299, 1901.
- A. GORIS : Recherches microchimiques sur quelques glucosides et quelques tanins végétaux. *Th. Doct. Sc.*, Paris, 1903.
- A. GORIS et L. CRÉTÉ : Sur la valeur purgative du *Polygonum cuspidatum*, Sieb. et Zucc. *Bull. Sc. Pharmacol.*, **14**, 698-703, 1907.
- A. GORIS : Sur un nouveau principe cristallisé de la Kola fraîche. *C. R. Ac. Sc.*, **144**, 1162-1164, 1906; *Bull. Sc. Pharmacol.*, **14**, 203-216, 1907.
- A. GORIS et L. CRÉTÉ : La Rhubarbe de Chine. *Bull. Sc. Pharmacol.*, **14**, 93-104, 1907.
- A. GORIS et L. CRÉTÉ : Sur la Nupharine. *Bull. Sc. Pharmacol.*, **17**, 13-15, 1910.
- A. GORIS : Sur un second composé cristallisé de nature phénolique retiré de la Kola fraîche ou stabilisée. *Bull. Sc. Pharmacol.*, **18**, 138-140, 1911.
- V. GRAFE et LINSBAUER : Ueber die Wechselseitige Beeinflussung von *Nicotiana Tabacum* L. und *Nicotiana affinis* Hort., bei der Propfung. *Ber. d. d. Bot. Gesell.*, **24**, 366-372, 1906.
- L. GRÉS : Contribution à l'étude anatomique et microchimique des Rhamnées. *Th. Doct. Univ. Pharm.*, Paris, 1901.
- W. GRÜNING : Beiträge zur Chemie der Nymphæaceen. *Arch. d. Pharm.*, **220**, 589-605, 1882.
- P. GUÉRIN : Recherches sur la localisation de l'Anagyrine et de la Cytisine. *Bull. Soc. Bot France*, **42**, 428-433, 1895.
- P. GUÉRIN : Recherches sur la localisation de l'Anagyrine et de la Cytisine. 62 p. in-8°, 6 pl. col. *Th. Pharm.*, Paris, 1895.
- L. GUIGNARD : Sur la localisation dans les Amandes et le Laurier-cerise des principes qui fournissent l'acide cyanhydrique. *Journ. Pharm. Chim.* (5<sup>e</sup> sér.), **21**, 233-236, 289-303, 1890.

- L. GUIGNARD : Sur la localisation des principes actifs des Crucifères. *Journ. Bot.*, **4**, 385-394, 412-430, 435-455, 1890.
- L. GUIGNARD : Recherches sur la nature et la localisation des principes actifs chez les Capparidées, Tropéolées, Limnanthées, Résédacées, Papayacées. *Journ. Bot.*, **7**, 345-364, 393-408, 417-426, 444-460, 1893.
- L. GUIGNARD : Sur l'existence et la localisation de l'émulsine dans les plantes du genre *Manihot*. *Bull. Soc. Bot. de France*, **41**, CIII-CVII, 1894.
- L. GUIGNARD : Recherches sur certains principes encore inconnus chez les Papayacées. *Journ. Bot.*, **8**, 67-79, 85-92, 1894.
- L. GUIGNARD : Sur l'existence dans le Sureau noir d'un composé fournissant de l'acide cyanhydrique. *C. R. Ac. Sc.*, **141**, 16-20, 1905; *Bull. Sc. Pharmacol.*, **12**, 63-66, 1905.
- L. GUIGNARD : Nouvelles observations sur la formation et les variations quantitatives du principe cyanhydrique du Sureau noir. *Bull. Sc. Pharmacol.*, **13**, 65-74, 1906.
- L. GUIGNARD : Sur les quantités d'acide cyanhydrique fourni par le *Phaseolus lunatus* L., cultivé sous le climat de Paris. *Bull. Sc. Pharmacol.*, **14**, 565-569, 1907.
- L. GUIGNARD : Recherches physiologiques sur la greffe des plantes à acide cyanhydrique. *Ann. Sc. nat. Bot.*, **6**, 261-305, 1907.
- L. GUIGNARD : Influence de l'anesthésie et du gel sur le dédoublement de certains glucosides chez les plantes. *C. R. Ac. Sc.*, **149**, 91-93, 1909.
- HABERLANDT : Ueber die anatomische Beziehung des Assimilationssystems zu den Milchröhren. *Bot. Centralbl.*, **12**, 142, 1882; **13**, 173, 1883.
- HABERLANDT : Ueber die physiologischen Anatomie der Milchröhren. *Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss. Wien, math. naturw. Kl.*, Abt. I, **87**, 51-69, 2 T., 1883; analyse : *Bot. Centralbl.*, **13**, 173, 1883.
- HANAUSECK : Zur histochemischen Kaffeinreaction. *Zeitschr. d. allg. öster. Apothek. Vereines*, **29**, 606-608, 1891.
- HANAUSECK : Ueber den Sitz der Saponin Substanz in den Kornradesamen. *Chem. Zeit.*, **16**, 1643, 1892.
- M. HARLAY : Le saccharose dans les organes végétaux souterrains. *Th. Doct. Univ. Pharm.*, Paris 1905.
- HARTWICH : Uebersicht der technisch und pharmaceutisch verwendeten Gallen. *Arch. d. Pharm.*, **221**, 821, 1883.
- HARTWICH : Beitrag zur Kenntniss der Strophanthussamen. *Arch. d. Pharm.*, **230**, 401-432, 1892.
- HAUF : Solanin in den Kartoffeln. *Buchner's neues Repert.*, **13**, 559, 1865; analyse : *Jahresber. d. Chem.*, **18**, 817, 1865.
- ED. HECKEL : Sur l'utilisation et la transformation de quelques alcaloïdes dans la graine pendant la germination. *C. R. Ac. Sc.*, **110**, 88-90, 1890.
- F. HEIM et H. HÉBERT : Les « Viscacheras » Graminées andines, productrices d'acide cyanhydrique. *Bull. mens. de l'Assoc. franç. pour l'avancement des Sciences*, **1**, 382, 1904.
- F. HEIM et A. HÉBERT : Sur la toxicité de deux *Stipa*. *Société française de colonisation. Bull. sect. Agric. coloniale*, juillet 1904.
- HERDER : Ueber einige neue allgemeine Alkaloidreagentien und deren mikrochemische Verwendung. *Arch. der Pharm.*, **244**, 120-132, 1906; *Dissert.*, Strasbourg, 1905.
- H. HÉRISSEY : Sur la « Prulaurasine », glucoside cyanhydrique cristallisé retiré des feuilles de Laurier-cerise. *Journ. Pharm. Chim.*, (6<sup>e</sup> sér.), **23**, 5-14, 1906.

- H. HÉRISSEY : Présence de l'Amygdonitrileglucoside dans le *Cerasus padus* Delarb., *Journ. Pharm. Chim.*, (6<sup>e</sup> sér.), **26**, 194-198, 1907.
- H. HÉRISSEY et C. LEBAS : Utilisation de l'aucubine par l'*Aspergillus niger* V. Tgh., *Journ. Pharm. Chim.*, (7<sup>e</sup> sér.), **3**, 521-525, 1911.
- A. HERLANT : L'analyse du poivre de CLUSIUS. Contribution à l'étude des plantes utiles du Congo. *Bull. Ac. roy. de méd. de Belgique*, (4<sup>e</sup> sér.), **8**, 832-840, 1894.
- OTTOMAR HERRMANN : Nachweis einiger organ. Verbindungen in den vegetabil. Geweben. *Dissert.*, Leipzig, 1876.
- HOFFMANN : Ueber die Quillajasäure. *Ber. Chem. Gesell.*, **36**, 2722-2734, 1903.
- V. HÖHNEL : Histochemische Untersuchungen über das Xylophilin und das Coniferin. *Sitzungsb. d. K. Akad. d. Wiss. Wien, math. naturw. Kl., Abt. I*, **76**, 663-716, 1877; analyse : *Bot. Zeit.*, **35**, 783-785, 1877.
- HOWARD : The quinology of the East Indian plantations. London, 1869, 7, pl. II.
- A. JACQUEMIN : Sur la localisation des alcaloïdes dans les Légumineuses. *Ann. Soc. roy. des Sc. méd. et nat. de Bruxelles*, **14**, 41-84, 1905; *Recueil Inst. bot.* ERRERA, **6**, 257-297, 1906.
- F. JADIN : Du siège des principes médicamenteux dans les végétaux. *Th. Agrégat. Pharmacie*, 154 p. in-8°, Montpellier, 1894.
- M. JAVILLIER : Sur la migration des alcaloïdes dans les greffes de Solanées sur Solanées. *Ann. de l'Inst. Past.*, **24**, 569-576, 1910.
- JOHANSON : Chemische Untersuchungen der *Caltha palustris* L. *Sitzungsb. der Natur. Ges. zu Dorpat.*, **4**, 544, 1878.
- A. JORISSEN : Recherches sur la germination des graines de Lin et des Amandes douces. *Bull. Ac. roy. de Belg.*, (3<sup>e</sup> sér.), **7**, 736-745, 1884.
- A. JORISSEN : Les phénomènes chimiques de la germination. 140 p. in-8°, Bruxelles, 1886.
- JORISSEN et HAIRS : La Linamarine, nouveau glucoside fournissant de l'acide cyanhydrique par dédoublement et retiré du *Linum usitatissimum* L. *Bull. Ac. roy. de Belg.*, (3<sup>e</sup> sér.), **21**, 529-540, 1891.
- A. JORISSEN : Recherches sur la formation de l'acide cyanhydrique. *Bull. Ac. roy. de Belg.*, **12**, 224-233, 1910.
- F. KEEBLE, E. F. ARMSTRONG, et W. NEILSON JONES : The Formation of the Anthocyan Pigments of Plants. *Proc. roy. Soc. London*, **87** (sér. B), 113-131, 1913.
- O. KELLNER, K. MAKINO et K. OGASAWARA : Die Zusammensetzung der Theeblätter in verschiedenen Vegetationsstadien. *Die Landwirthsch. Versuchsstationen*, **33**, 370-380, 1887.
- KLEBS : Einige Bemerkungen zu der Arbeit von KRASSER « Untersuchung über das Vorkommen von Eiweiss in der pflanzlichen Zellhaut ». *Bot. Zeit.*, **45**, 697-708, 1887.
- KNOP et WOLF : Ueber die stickstoffhaltigen Nährstoffe der Pflanzen. *Die Landwirthsch. Versuchsstationen.*, **7**, 463, 1865.
- KOBERT : Ueber Quillajasäure. Beiträge zur Kenntniss der Saponin Substanz. *Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm.*, **23**, 233-272, 1887.
- KÖNIG : Chemie der menschlichen Nahrungsmittel. Berlin, 704-724, 1903.
- J. LABORDE : Sur une moisissure nouvelle, *Eurotipsis Gayoni*. *Th. Doct. Sc.*, Paris, 1896.
- J. M. LASCHÉ : Examination of some of the poisonous Ericaceæ of North America. *New-Yorker Pharm. Rundsch.*, **7**, 208-213, 1889.

- CH. LAURENT : Sur la variation de la quantité d'atropine et de la recherche de cet alcaloïde dans des greffes de Belladone et de Tomate. *Revue bretonne de Bot.*, n° 2, 71-77, 1906.
- CH. LAURENT : Etude sur les modifications chimiques que peut amener la greffe dans la constitution des plantes. *Th. Doct. Sc.*, Paris, 1908.
- E. LAVES : Ueber die Zusammensetzung der Früchte von *Esculus Hippocastanum* L., *Pharm. Centralh.*, 42, 333-336, 1901.
- LEBRETON : Note sur la matière cristallisée des orangettes et analyse de ces fruits non encore développés. *Journ. Pharm.* (2° sér.), 14, 377-392, 1828.
- F. LEFEBVRE : Etude historique et critique des principaux réactifs généraux et de quelques réactions particulières d'alcaloïdes. *Th. Doct. Univ. Pharm.*, Paris, 1912.
- LÉONARD : Action de la lumière sur la production de l'amygdaline dans les feuilles de Laurier-cerise. *Journ. Pharm. Chim.* (4° sér.), 25, 201-203, 1877.
- H. LINDEMUTH : Ueber angebliches Vorhandensein von Atropin in Kartoffelknollen in folge von Transplantation und über die Grenzen der Werwachsung nach den Verwandtschaftsgrade. *Ber. d. d. Bot. Gesell.*, 24, 428-435, 1906.
- LINDT : Ueber d. mikrochem. Nachweis von Brucin u. Strychnin. *Zeitschr. f. wiss. Mikrosk.*, 1, 237-240, 1884.
- LOTSY : De localisatie van het alcaloïd in *Cinchona Calisaya Ledgeriana* en in *C. succirubra*. *Mededeelingen van de Laboratoria der Gouvernement's Kinaonderneming*. Batavia, 128 p. avec 36 fig. et 20 pl. col., 1898.
- L. LUTZ : Localisation des principes actifs dans les Sénéçons. *Bull. Soc. Bot. de France*, 42, 486-488, 618-619, 1895.
- L. LUTZ : Sur la nutrition azotée des plantes phanérogames à l'aide des amines, des sels d'ammoniums composés et des alcaloïdes. *C. R. Ac. Sc.*, 126, 1227-1229, 1898.
- L. LUTZ : Recherches sur la nutrition des végétaux à l'aide de substances azotées de nature organique (amines, sels d'ammoniums composés et alcaloïdes), Paris, 1898 (thèse soutenue en 1899); *Ann. Sc. nat. Bot.*, (8° sér.), 7, 1-103, 1899.
- L. LUTZ : Sur le rôle des alcaloïdes envisagés comme source d'azote pour les végétaux. *Bull. Soc. Bot. de France* (4° sér.), 3, 118-128, 1903.
- L. LUTZ : Sur l'emploi de substances organiques comme source d'azote par les végétaux vasculaires et cellulaires. (Résumé). *Bull. Soc. Bot. de France* (4° sér.), 5, 194-202, 1905.
- L. LUTZ et GUÉGUEN : De l'unification des méthodes de culture pour la détermination des Mucédinées et des Levures. *Bull. Sc. Pharmacol.*, 1, 475-481, 1900.
- MACQUET : Etude sur l'Aloès. *Th. Pharm.*, Paris, 1888.
- MARCACCI : L'azione degli alcaloidi nel regno vegetale ed animale. *Ann. d. Chim. e d. Farm.*, Milano, 5, 3-7, 1887.
- MARCEY : De l'action des poisons sur le règne végétal. *Ann. Chim. Phys.* (2° sér.), 29, 200-224, 1825.
- MÉHU : Traité pratique et élémentaire de chimie médicale. Paris, Asselin, 26, 1870.
- MESNARD : Sur les transformations que subissent les substances de réserve pendant la germination des graines. *Bull. Soc. Bot. de France*, 40, 35-42, 1893.
- ADOLF MEYER : Anatom. Charakteristik offizineller Blätter und Kräuter, Halle, 1882.

- A. MEYER et E. SCHMIDT : Ueber die gegenseit. Beeinflussung d. Symbiontenheteroplastisch. Transplantation, mit besonderer Berücksichtigung der Wanderung der Alkaloide durch der Pfropfstellen. *Flora*, **100**, 317-397, 1909-1910.
- G. MEYER : Ueber den Gehalt der Kartoffeln an Solanin und über die Bildung desselben während der Keimung. *Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm.*, **36**, 361-372, 1895.
- EM. MIÈGE : Recherches sur les principales espèces de *Fagopyrum* Th. *Doct. Sc.*, Paris, 1910.
- MILLER : The improvement of medicinal plants. *Pharm. Journ. and Trans.*, **35**, 367-369, 1912.
- MILLER : Breeding medicinal plants. *Amer. Journ. of Pharm.*, **85**, 291-301, 1913.
- A. MIRABELLA : Sui laticiferi della radici aeres di *Ficus*. *Contrib. alla biol. veg.*, **2**, 131-136, 1898.
- MIRANDE : Recherches physiologiques et anatomiques sur les Cuscutacées. *Thèse Doct. Sc.*, Paris, 1900.
- M. MIRANDE : Sur l'origine de l'anthocyanine déduite de l'observation de quelques insectes parasites des feuilles. *C. R. Ac. Sc.*, **145**, 1300-1302, 1907.
- MITLACHER : Ueber einige anatomische Verhältnisse der Labiaten. *Zeits. allg. österr. Apothek. Vereines*, **46**, 1-4, 17-19, 33-44, 45-47, 1908.
- MODRAKOWSKI : Ueber das Hesperidin in *Conium maculatum* L. *Polnisches Arch. f. biol. u. med. Wiss.*, **3**, 1905.
- J.-B. MOENS : Die Kinacultur in Asien, 162, 1882.
- M. MOLLIARD : Action morphogénique de quelques substances organiques sur les végétaux supérieurs. *Rev. gén. de Bot.*, **19**, 340-387, 1907.
- M. MOLLIARD : Production expérimentale de tubercules blancs et de tubercules noirs à partir des graines de Radis rose. *C. R. Ac. Sc.*, **148**, 573-575, 1909.
- H. MOLISCH : Ein neues Coniferinreagens. *Ber. d. d. Bot. Gesell.*, **4**, 301-308, 1886.
- H. MOLISCH : Grundriss einer Histochemie der pflanzlichen Genussmittel, 65 p., in-8°, Iéna, 1891.
- H. MOLISCH et G. GOLDSCHMIDT : Ueber das Scutellarin, einen neuen Körper bei *Scutellaria* und anderen Labiaten. *Monatshefte f. Chemie*, **22**, 680-681, 1901.
- H. MOLISCH : Mikrochemie der Pflanze. Iéna, 1913.
- PH. MOLLE : Recherches de microchimie comparée sur la localisation des alcaloïdes dans les Solanacées. *Mémoires couronnés et autres Mémoires publiés par l'Acad. roy. de Belgique*, **43**, 1895, *Recueil Inst. bot.* ERRERA, **2**, 281-336, 1 pl. col., 1906.
- PH. MOLLE : Un alcaloïde dans le *Clivia miniata* Benth. *Ann. Soc. roy. des Sc. méd. et nat. de Bruxelles*, **11**, fasc. 3, 1902; *Recueil Inst. bot.* ERRERA, **6**, 57-71, 2 pl. col., 1906.
- UGOLINO MOSSO : Azioni di alcuni alcaloidi sul germogliamento dei semi e sul successivo sviluppo della pianta. *Att. d. Soc. Ligustica di scienze nat. e geogr. Genova*, **5**, 1-8, 1894.
- EM. NICKEL : Farbenreactionen der Kohlenstoffverbindungen. 2<sup>e</sup> Aufl., 32, 1890.
- OSENBRÜG : Ueber die Entwicklung des Samens der *Areca Catechu* L. und die Bedeutung der Ruminationen. *Dissert.*, Marburg, 1894.
- R. OTTO et F. FALK : Weitere Untersuchungen über die Entgiftungskraft des Erdbodens. *Naturw. Wochensch.*, **7**, 515, 527, 575, 1892.
- R. OTTO et F. FALK : Neuere Versuche betref. der Entgiftungskraft des Erdbodens. *Naturw. Wochensch.*, **7**, 103, 1892.

- R. OTTO : Ueber den Einfluss von Strychninsalzlösungen auf die Entwicklung von Pflanzen in verschiedenen Bodenarten. *Zeitschr. f. Pflanzenkrankh.*, **4**, 210, 1894.
- R. OTTO : Welchen Einfluss haben Strychninsalzlösungen auf die Entwicklung von Pflanzen in Sand und Humusboden. *Naturw. Wochensch.*, **9**, 625-626, 1894.
- R. OTTO : Inwieweit ist die lebende Pflanze bei den entgiftenden Vorgängen im Erdboden, speziell dem Strychnin gegenüber, beteiligt? *Landwirthsch. Jahr.*, **25**, 1007-1023, 1896.
- OVERTON : Ueber die osmotische Eigenschaften der Zelle in ihrer Bedeutung für die Toxikologie und Pharmakologie. *Zeitschr. f. Physikal. Chem.*, **22**, 189-209, 1897.
- OVERTON : Beobacht. und Vers. über Auftreten im rothem Zellsaft bei Pflanzen. *Jahrbücher. f. wiss. Bot.*, **33**, 171-231, 1899.
- W. PALLADINE : Ueber die Bildung der Atmungschromogene in den Pflanzen. *Ber d. d. bot. Gesell.*, **26** (1) 389-394, 1908.
- PASCHERIS : In Realencyclopädie der gesammten Pharmacie, **3**, 212 (1 Ausfl.), 1887.
- V. PATRAU : Recherches sur les Strophanthus. *Th. Doct. Univ. Pharm.*, Paris, 1900.
- K. PECHE : Mikrochemischer Nachweis der Cyanwasserstoffsäure in *Prunus Laurocerasus* L. *Sitzungsb. d. K. d. Akad. Wiss. Wien, math.-naturw. Kl. Abt I*, **121**, 33-55, 1912.
- K. PECHE : Mikrochemischer Nachweis des Myrosins. *Sitzungsb. d. K. Akad. Wiss. Wien, math.-naturw. Kl. Abt I*, **122**, 458-462, 1913.
- EM. PERROT et A. GORIS : Essai d'une terminologie des corps désignés généralement sous le nom de « Tanins ». *Bull. Sc. Pharmacol.*, **16**, 189-191, 1909.
- PFEFFER : Hesperidin. ein Bestandtheil einiger Hesperideen. *Bot. Zeit.*, **32**, 529-539, 1874.
- W. PFEFFER : Physiologie végétale, traduct. J. FRIEDEL, Paris, 461, 511, 1906.
- PICK : Ueber die Bedeutung des rothen Farbstoffes bei den Phaneroganen und die Beziehungen desselben zur Stärkewanderung. *Bot. Centralbl.*, **16**, 281-284, 314-318, 343-347, 375-382, 1883.
- A. PICTET : Quelques considérations sur la genèse des alcaloïdes dans la plante. *Arch. d. Sc. phys. et nat. de Genève* (4<sup>e</sup> sér.), **49**, 329-352, 1905.
- A. PICTET : Ueber die Bildungsweise der Alkaloide in den Pflanzen. *Arch. d. Pharm.*, **244**, 389-396, 1906.
- PIROTTA et MARCATILI : Sui rapporti tra i vasi laticiferi ed el sistema assimilatore nelle piante. *Ann. Ist. bot. di Roma*, **2**, 48-52, 1885.
- M<sup>lle</sup> MARGHERITA PIZETTI : Sulla localizzazione dell'alcaloide nel *Nuphar luteum* Schmidt et nelle *Nymphaea alba* L. *Malpighia*, **18**, 106-109, 1904.
- L. PLANCHON : Produits fournis à la Matière Médicale par la famille des Apocynées. Montpellier, 1894.
- LÉOPOLD VON PORTHEIM et EM. SCHOLL : Untersuchungen über die Bildung und der Chemismus von Antokyanen. *Ber d. d. Bot. Gesell.*, **26** (1), 480-483, 1908.
- J. POUGNET : Action des rayons ultra-violetts sur les plantes à coumarine et quelques plantes dont l'odeur provient de glucosides dédoublés. *C. R. Ac. Sc.*, **151**, 566-569, 1910.
- J. POUGNET : Action des rayons ultra-violetts sur la vanille. *C. R. Ac. Sc.*, **152**, 1184-1186, 1911.

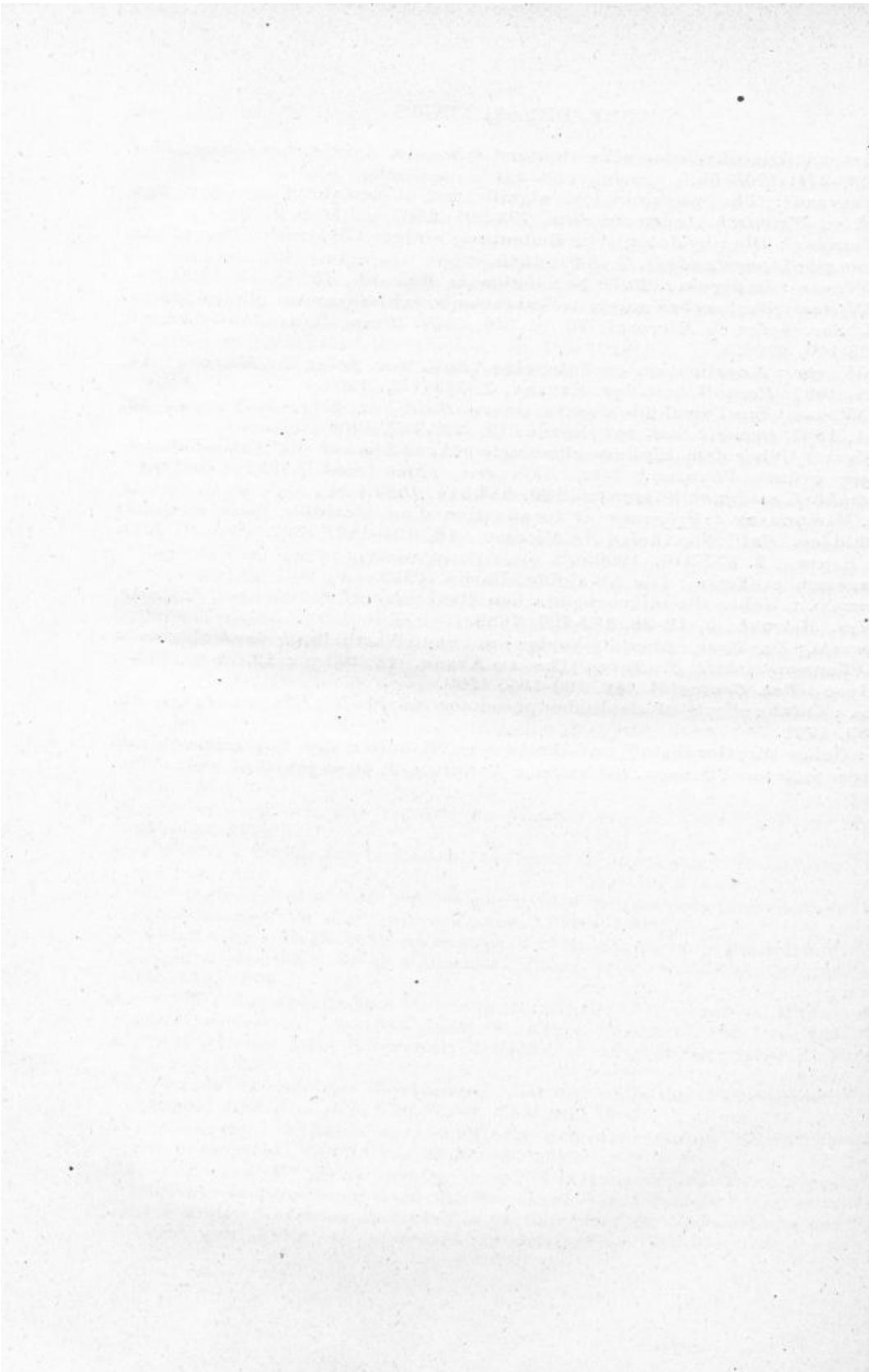
- J.-P. POWER et F.-H. CORNALL : The constituents of Chaulmoogra seeds. *Journ. of the Chem. Soc.*, **85**, 838-851, 1904.
- F.-P. POWER et C.-W. MOORE : The Constituents of the Bark of *Prunus Serrata*. Isolation of l-Mandelonitrile Glucoside. *Journ. of the Chem. Soc.*, **95**, (1) 243-261, 1909.
- MACAIRE PRINCEPS : Mémoire sur l'influence des poisons sur les plantes douées de mouvements excitables. *Ann. Chim. Phys.* (2<sup>e</sup> sér.), **39**, 85-95, 1828.
- MACAIRE PRINCEPS : Note sur l'empoisonnement des végétaux par les substances vénéneuses qu'ils fournissent eux-mêmes. *Ann. Chim. Phys.* (2<sup>e</sup> sér.), **39**, 95-97, 1828.
- PURIWITSCH : Ueber die Spaltung der Glycoside durch die Schimmelpilze. *Ber d. d. Bot. Gesell.*, **16**, 368-377, 1898.
- A.-H. DE PUYMALY : L'acide cyanhydrique dans les plantes vertes. Bordeaux, 1912.
- FRANCIS RANSON et J. HENDERSON : The effect of cultivation upon the Alkaloidal Content of *Atropa Belladonna* L. *Chem. and Drugg.*, **81**, 432-434, 1912.
- FRANCIS RANSON et J. HENDERSON : The effects of Cultivation and Fertilisers on the Growth of the Plant and its Alkaloidal Content. *Chem. and Drugg.*, **81**, 443-445, 1912.
- A. RAUWERDA : Voortgezette onderzoekingen over het voorkomen van Cytisine in verschillende Papilionaceae. *Nederl. Tijdschr. voor Pharm.*, **9**, 353-359, 1897.
- C. RAVENNA et PELI : L'acido cianidrico e l'assimilazione dell' azoto nell piante verdi. *Gazzett. chim. ital.*, **37**, (2), 586-600, 1907.
- C. RAVENNA et M. TONEGUTTI : Contributo allo studio dell'acido cianidrico nel Sambuco. *Staz. sperim. agric. ital.*, **42**, 855-879, 1909.
- C. RAVENNA et M. TONEGUTTI : Alcune osservazioni sulla presenza dell'acido cianidrico libero nelle piante. *Rendiconti d. r. Acc. dei Lincei* (5<sup>e</sup> sér.), **19** (2), 19-25, 1910.
- C. RAVENNA et M. ZAMORANI : Sulla formazione dell'acido cianidrico nelle germinazione dei semi. *Rendiconti d. r. Acc. dei Lincei* (5<sup>e</sup> sér.), **19** (2), 356-361, 1910.
- P. REGNARD : Action de la cocaïne sur la fermentation alcoolique. *C. R. Soc. Biol.* (8<sup>e</sup> sér.), **2**, 32-33, 1885.
- P.-O. RÉVEIL : De l'action des poisons sur les plantes. *Th. Doct. Sc. Lyon*. Paris, 97-122, 1865.
- A. ROBIQUET et A.-J. BOUTRON-CHARLARD : Nouvelles expériences sur les Amandes amères et sur l'huile volatile qu'elles fournissent. *Ann. Chim. Phys.*, **44**, 352-382, 1830.
- A. ROSOLL : Beiträge zur Histochemie der Pflanzen. *Zeitschr. f. wiss. Mikrosk.*, **1**, 463, 1884.
- A. ROSOLL : Beiträge zur Histochemie der Pflanzen. I. Das Helychrysin, 137-142; II. Pilzfarbstoffe, 142-143; III. Ueber den directen Nachweis der Saponin im Gewebe der Pflanzen; IV. Ueber den Sitz und den mikrochemischen Nachweis des Strychnin in den Samen von *St. Nux-vomica* L. u. *St. potatorum* L. 147-150; *Sitzungsber. d. K. d. Akad. Wiss. Wien, math-naturw. Kl. Abt I*, **89**, 137-150, 1884; *Monatsh. f. Chemie*, **5**, 94-107, 1884.
- A. ROSOLL : Ueber den mikrochem. Nachweis der Glycoside und Alkaloide in den veget. Geweben, 25. *Jahresb. des niederösterreichischen Landes-Realgymnasiums zu Stockerau*. Stockerau. **25**, 1889-1890.
- A. ROSOLL : Ueber den mikrochemischen Nachweis der Curcumins und Coniains in den vegetabil. Geweben. *Jahresb. d. niederösterr. Landes Oberreals-*

- chule etc. in Wiener-Neustadt*, **29**, 1894; analyse : *Bot. Centralb.*, **60**, 174-175, 1894.
- C. RUNDQUIST : Mikrochemische Untersuchung der Radix Columbo. *Schweiz. Woch. f. Chem. u. Pharm.*, **39**, 280-282, 1901.
- RUSSELL : Recherche sur la localisation de la Taxine chez l'If. *Assoc. franc. avanc. des Sc. Congrès Montauban*, 693-696, 1901, 2<sup>e</sup> partie.
- W. RUSSELL : Essai sur la localisation de la Daphnine dans le *Daphne Laureola* L. *Rev. gén. Bot.*, **14**, 420-426, 1902.
- RUSSELL : Sur le siège de quelques principes des végétaux pendant le repos hivernal. *Rev. gén. Bot.* **15**, 160-165, 1903.
- W. RUSSELL : Sur les migrations des glucosides chez les végétaux. *C. R. Ac. Sc.*, **139**, 1231-1233, 1904.
- W. RUSSELL : Recherches expérimentales sur les principes actifs de la garance. *Rev. gén. de Bot.*, **17**, 254-259, 1905.
- SACHS : Vorlesungen über Pflanzenphysiologie, 396, 1882.
- L. SAUVAN : Recherches sur la localisation de la brucine et de la strychnine dans les semences de *Strychnos Nux-vomica*, *St. Ignatii*, *St. Gaultheriana*, *Journ. Pharm. Chim.* (6<sup>e</sup> sér.), **1**, 496-498, 1895.
- L. SAUVAN : Localisation des principes actifs dans les végétaux. *Journ. Bot.*, **10**, 126-140, 157-162, 1896.
- L. SAUVAN : Recherches sur la localisation de la Daphnine dans le *Daphne alpina* L. et *D. Gnidium*, L. *Journ. Pharm. Chim.* (6<sup>e</sup> sér.), **3**, 443-445, 1896.
- S. SAWA : An caffeine and antipyrin in high degree poisonous for plants? *Bull. of the college of Agric. Tokyo*, **4**, 413-414, 1901.
- SCHAARSCHMIDT : Ueber d. mikrochem. Reaction. des Solanins. *Zeitschr. f. wiss. Mikrosk.*, **1**, 61-62, 1884.
- SCHIMPER : Anleitung z. mikroskopischen Untersuchung d. Nahrungs und Genussmittel. Iéna, 1886.
- ERNST SCHMIDT : Altes und neues aus der Alkaloidchemie. *Apot. Zeit.*, **22**, 911-916, 1907.
- E. SCHMIDT et A. MEYER : Die Wanderung der Alkaloide aus dem Propfweise in der Unterlage. *Arch. d. Pharm.*, **245**, 329-336, 1907.
- G. SCHÜBLER : Untersuchungen über die Einwirkung verschiedener Stoffe des organischen und anorganischen Reiches auf das Leben der Pflanzen. *Dissert.*, présentée par E. A. ZELLER, Tubingen, in-8<sup>o</sup>, 58 p., 1826; résumé : *Flora*, **2**, 753, 1827.
- E. SENFT : Zum mikrochemischen Nachweise des Zuckers. *Sitzungsb. d. K. Akad. d. Wiss. Wien, math. naturw. Kl.*, Abt. I, **113**, 3-27, 2 pl., col., 1904; *Monatshefte f. Chem.*, **25**, 392-422, 2 pl. col., 1904; *Pharm. Post.*, **35**, 425-426, 1902.
- E. SENFT : Der mikrochemische Nachweis, sowie die Unterscheidung des Zuckers in Drogen, Nahrungs- und Genussmitteln. *Zeitschr. d. öster. Apothek. Vereines*, **42**, 13-15, 1905.
- SOAVE : Sulla funzione fisiologica dell'acido cianidrico nelle piante. *Staz. speriment. agric. ital.*, **21**, 501, 1898; *Ann. di Farmacoter. e Chim.*, **27-28**, 481-493, 1898.
- SOAVE : I glucosidi cianogenetic delle piante e la utilizzazione dell azoto delle reserve. *Ann. dell. r. Acc. d'agr. di Torino*, **49**, 99-108, 1906; *Staz. speriment. agric. ital.*, **39**, 428-437, 1906.
- R. SOUÈGES : Emploi des réactifs gazeux pour la caractérisation des principes actifs dans les drogues. *Bull. Sc. Pharmacol.*, **18**, 527-529, 1911.

- J. STARKE : De la prétendue existence de solanine dans les graines de Tabac. *Bull. Ac. roy. de Belg.*, **3**, 379-383, 1901. *Recueil Inst. bot.* ERBERA, **5**, 295-298, 1902.
- G. F. STRACKE : Onderzoekingen over de immuniteit van hoogere planten voor haart eigen vergift. *Proefschrift*, Amsterdam, 1907; *Archiv. néerland. des Sc. exactes et naturelles*, 2<sup>e</sup> sér.), **10**, 8-61, 1905.
- STRASBURGER : Ueber Verwachsungen und deren Folgen. *Ber. d. d. Bot. Gesell.*, **3**, p. XXXIV-XL, 1885.
- E. STRASBURGER : Zu dem Atropinnachweis in den Kartoffelknollen. *Ber. d. d. Bot. Gesell.*, **24**, 599-600, 1906.
- U. SUZUKI : Contribution to the physiological Knowledge of the tea plants. *Bull. of the College of Agric. Tokyo*, **4**, 260-266, 1901.
- SUZUKI : On the localization of theine in the tea leaves. *Bull. of the College of Agric. Tokyo*, **4**, 297-298, 1901.
- P.-G.-E. THEORIN : Några Växtmikrokemiska antekningar. *Öfversigt af K. Vetensk. Akad. Förhandlingar*. Stockholm, 20, 1885.
- TARGIONI TOSETTI : Animalì ed insetti del tabacco in erba e del tabacco secco. Firenze, 1891.
- G.-B. DE TONI et MACH : Sopra l'influenza esercitata dalla nicotina e dalla solanina sulla germogliazione dei semi di Tabacco. *Boll. d. r. Ist. d. Università Parmense*, 63-68, 1892-1893.
- A. TRÉCUL : Du suc propre dans les feuilles d'Aloès. *C. R. Ac. Sc.*, **72**, 520-531, 1871 et *Ann. Sc. nat. Bot.* (5<sup>e</sup> sér.), **14**, 80-90, 1871.
- A. TREUB : Sur la localisation, le transport et le rôle de l'acide cyanhydrique dans le *Pangium edule* Reinw. *Ann. Jard. bot. Buitenzorg*, **13**, 1-89, 1896.
- M. TREUB : Nouvelles recherches sur le rôle de l'acide cyanhydrique dans les plantes vertes. *Ann. Jard. bot. Buitenzorg* (2<sup>e</sup> sér.), **4**, 86-146, 1904.
- M. TREUB : Nouvelles recherches sur le rôle de l'acide cyanhydrique dans les plantes vertes. *Ann. Jard. bot. Buitenzorg* (2<sup>e</sup> sér.), **6**, 79-106, 1907.
- M. TREUB : Notice sur l'« effet protecteur » assigné à l'acide cyanhydrique des plantes. *Ann. Jard. bot. Buitenzorg* (2<sup>e</sup> sér.), **6**, 107-114, 1907.
- M. TREUB : Nouvelles recherches sur le rôle de l'acide cyanhydrique dans les plantes vertes. *Ann. Jard. bot. Buitenzorg* (2<sup>e</sup> sér.), **8**, 85-118, 1909.
- TSCHIRCH et CESTERLE : Anatomischer Atlas der Pharmacognosie und Nahrungsmittelkunde. Leipzig, 1895-1898.
- O. TUNMANN : Ueber Kristalle in Herba Conii. *Pharm. Zeit.*, **50**, 1055-1057, 1905.
- O. TUNMANN : *Hyssopus officinalis* L. *Zeitschr. d. allg. österr. Apothek. Vereines*, **44**, 407-409, 1906.
- O. TUNMANN : Ueber Folia Uvae-ursi und den mikrochemischen Nachweis des Arbutin. *Pharm. Centralh.*, **47**, 945-947, 1906.
- O. TUNMANN : Ueber den mikrochemischer alkaloidnachweis speziell in den Blättern von *Pilocarpus pennatifolius* Lem. *Schweiz. Woch. f. Chem. u. Pharm.*, **47**, 177-183, 1909.
- O. TUNMANN : Ueber die Kristallauscheidungen einigen Drogen (Hesperidine) und über physiologische Bedeutung dieser Körper. *Schweiz. Woch. f. Chem. u. Pharm.*, **47**, 777-782, 793-797, 1909.
- O. TUNMANN et JENZER : Pharmakognostische Untersuchungen über *Pilocarpus pennatifolius* Lem. und *Erythroxyton Coca* Lam. mit besonderer Berücksichtigung ihrer Alkaloide. *Schweiz. Woch. f. Chem. u. Pharm.*, **48**, 17-24, 1910.
- O. TUNMANN : Ueber die Alkaloide in *Strychnos Nux-vomica* L. während der Keimung. *Arch. d. Pharm.*, **248**, 644-657, 1910.

- O. TUNMANN : Beiträge zur angewandten Pflanzenmikrochemie. Ueber den Nachweis und die Lokalisation des Andromedotoxins in Ericaceen. *Apot. Zeit.*, **26**, 555-557, 1911.
- O. TUNMANN : Zur Mikrochemie der Arekanuss. *Pharm. Post.*, **44**, 703-706, 1911.
- O. TUNMANN : Beiträge zur angewandten Pflanzenmikrochemie. Zur Mikrochemie der Colombowurzel. *Apot. Zeit.*, **27**, 268-270, 1912.
- O. TUNMANN : Beiträge zur Mikrochemie einiger Wurzeldrogen. *Handelsbericht Gehe u. Co.*, 179, 1912.
- O. TUNMANN : Pflanzenmikrochemie, Berlin, 1913.
- UNGER : Zum Kapitel « Folia Belladonnæ ». *Apot. Zeit.*, **27**, 763-764, 1912.
- E. VANDERLINDEN : Recherches microchimiques sur la présence des alcaloïdes et des glucosides dans la famille des Renonculacées. *Ann. Soc. roy. d. Sc. méd. et nat. de Bruxelles*, **10**, fasc. 1, 1901; *Recueil Inst. bot. ERRERA*, **5**, 135-178, 2 pl. col., 1902.
- A. J. VAN DE VEN : Over het cyaanwaterstofzuur bij de Prunaceæ. *Proefschrift*, Amsterdam, 1898.
- E. B. VAN DYCK : Phytochemische onderzoekingen over Alkaloïden in verband met het Kiemen. *Proefschrift*, Utrecht, 1900.
- H. VAN GULICK : De Physiologische beteeknis van het alkaloïd in den Goudenregen. *Proefschrift*, Leyde, 1901.
- P. VAN LEERSUM : Over den invloed, die *Cinchona succirubra*, onderstam en de daarop geëinde *Ledgeriana*, ten sprichte van het alkaloïdgehalt, wederkeerig op elkander voor Nederlandsch-Indie. (Sur l'action réciproque des souches de *Cinchona succirubra* Pav. et des *C. Ledgeriana* Wedd. qui y sont greffées au point de vue de la teneur en alcaloïde). *Natuurkundig Tijdschrift voor Nederlandsch — Indie*, **59**, 33-54, 1900.
- VAN ROMBURGH et LOHMANN : Onderzoekingen betreffende op Java gecultiveerde Theeën. *Verslag omtrent den Staat van's Lands Plantentuin te Buitenzorg*, 159, 1896.
- DE VARIGNY : L'atropine est-elle un engrais végétal? *Rev. gén. de Bot.*, **4**, 407-420, 1892.
- VILLENEUVE : Etude sur le Redoul (*Coriaria myrtifolia* L.). *Th. pharm.*, Montpellier, 1893.
- J. VINTILESCO : Recherches sur les glucosides de quelques plantes de la famille des Oléacées. *Th. Doct. Univ. Pharm.*, Paris, 1906.
- J. VINTILESCO : Recherche et dosage de la « Syringine » dans les différents organes des lilas et des troènes. *Journ. Pharm. Chim.* (6<sup>e</sup> sér.), **24**, 145-149, 1906.
- A. VOGEL : Zur chemischen Wirkung des Lichts. *Sitzungsb. d. Münch. Akad. math. naturw. Kl.*, **1**, 1885, analyse : *Chem. Centralbl.*, **16**, 756, 1885.
- A. VOGL : Ueber folia Jaborandi. *Zeitschr. d. allg. öster. Apothek. Vereines*, **34**, 1-8, 1896.
- W. WAAGE : Ueber das Vorkommen und die Rolle des Phloroglucins in der Pflanze. *Ber. d. d. bot. Gesell.*, **8**, 250-292, 1890.
- WACKENRODER : Ueber die Darstellung und über einige Eigenschaften des Solanins. *Arch. d. Pharm.*, **33**, 60-68, 1843.
- TH. WEEVERS et M<sup>me</sup> WEEVERS-DE GRAAFF : Untersuchungen über einige Xanthinderivate in Beziehung zum Stoffwechsel der Pflanzen. (Onderzoekingen over einige Xanthine derivaten in verband met de stofwisseling der Plant.) *Versl. gew. Verg. Ak. Wetensch. te Amsterdam*, 369-374, 1903.

- TH. WEEVERS : Die physiologische einiger Glykoside. *Jahrbücher f. wiss. Bot.*, **39**, 229-271, 1903-04.
- TH. WEEVERS : The physiological significance of certain glucosides. *Kon. Akad. v. Wetensch. te Amsterdam*, 193-201, 1909.
- TH. WEEVERS : Die physiologische Bedeutung einiger Glykoside. *Recueil des Travaux bot. néerlandais*, **7**, 1-61, 1910.
- A. DE WÈVRE : La lignine. *Bull. Soc. belge de Microsc.*, **15**, 49-54, 1889.
- A. DE WÈVRE : Recherches sur la technique microchimique des albuminoïdes. *Bull. Soc. belge de Microsc.*, **20**, 91-120, 1894. *Recueil Inst. bot. ERRERA*, **2**, 123-146, 1906.
- A. DE WÈVRE : Localisation de l'atropine. *Bull. Soc. belge de Microsc.*, **14**, 19-21, 1887. *Recueil Inst. bot. ERRERA*, **2**, 233-235, 1906.
- A. DE WÈVRE : Sur l'alcaloïde des Narcisses. *Bull. Soc. belge de Microsc.*, **13**, 37-41, 1887. *Recueil Inst. bot. ERRERA*, **2**, 229-233, 1906.
- TH. WEYL : Ueber dem Einfluss chemischer Agentien auf die Assimilationsgrösse grüner Pflanzen. *Sitz. Erlangen phys. med.*, 1881; analyse : *Centrabl. f. medicin. Wissensch.*, **20**, 643-644, 1882.
- E. DE WILDEMANN : Présence et localisation d'un alcaloïde dans quelques Orchidées. *Bull. Soc. belge de Microsc.*, **18**, 101-112, 1892. *Recueil Inst. bot. ERRERA*, **2**, 337-346, 1906.
- WINTERSTEIN et TRIER : Die Alkaloide, Berlin, 1910.
- WOOTZAAAL : Ueber die mikrochemischen Reaktionen des Solanins. *Zeitschr. f. wiss. Mikrosk.*, **5**, 19-38, 182-195, 1889.
- WOOTZAAAL : Zur Frage über die Verbreitung und Vertheilung des Solanins in den Pflanzen. *Arbeit. d. Natur. Ver. zu Kasan.*, **18**, 103 p.; **19**, 74 p., 1889; analysé : *Bot. Centralbl.*, **41**, 100-104, 1890.
- YASUDA : On the effects of alcaloids upon some mould. *Bot. Magaz. Tokyo*, **15**, 79-83, 1901.
- ZOFF : Ueber die Gersbstoff und Anthocyan. Behälter der Fumariaceen und einiger anderen Pflanzen. *Bibliotheca Botanica*, **2**, 40 pages, 3 pl. col., 1886.





<i>Cannacées.</i> Alcaloïdes des <i>Canna</i> . . . . .	60
<i>Orchidacées.</i> 1° Alcaloïdes du <i>Dendrobium nobile</i> Lindl. . . . .	61
— 2° Alcaloïdes de l' <i>Eria stellata</i> Lindl. . . . .	63
— 3° Alcaloïdes du <i>Phalænopsis Lueddemanniana</i> Rehb. . . . .	63
— 4° Alcaloïdes du <i>Catasetum tabulare</i> Lindl. . . . .	63
<i>Pipéracées.</i> Pipérine. . . . .	64
<i>Renonculacées.</i> 1° Alcaloïdes des <i>Delphinium</i> . . . . .	65
— 2° Alcaloïdes du <i>Caltha palustris</i> L. . . . .	67
— 3° Alcaloïdes des <i>Aconitum</i> . . . . .	68
<i>Aconitum Napellus</i> L. . . . .	70
— <i>Lycoctonum</i> L. . . . .	71
— <i>Anthora</i> L. . . . .	72
— 4° Thalictrine. . . . .	72
— 5° Alcaloïdes de l' <i>Isopyrum</i> . . . . .	73
— 6° Alcaloïdes des <i>Adonis</i> . . . . .	74
— 7° Alcaloïdes des <i>Nigella</i> . . . . .	74
— 8° Alcaloïdes de l' <i>Hydrastis</i> . . . . .	75
<i>Berberidacées.</i> 1° Berbérine } <i>Berberis vulgaris</i> L. . . . .	80
} <i>Fibraurea chloroleuca</i> Miers. . . . .	81
} <i>Jeffersonia diphylla</i> Pers. . . . .	81
— 2° Alcaloïdes du <i>Chasmanthera palmata</i> H. Bn. . . . .	82
<i>Nymphéacées.</i> Nupharine. . . . .	84
<i>Papavéracées.</i> Alcaloïdes du <i>Papaver somniferum</i> L. . . . .	87
<i>Fumariacées.</i> Corydaline. . . . .	91
<i>Erythroxyllacées.</i> Alcaloïdes de l' <i>Erythroxyton Coca</i> Lam. . . . .	94
<i>Rutacées.</i> 1° Alcaloïdes du <i>Peganum Harmala</i> L. . . . .	95
— 2° Alcaloïdes des <i>Pilocarpus</i> . . . . .	97
<i>Légumineuses.</i> 1° Spartéine . . . . .	99
— 2° Cytisine . . . . .	102
— 3° Anagyrene . . . . .	105
— 4° Alcaloïde du <i>Pithecolobium Saman</i> Benth. . . . .	107
— 5° Esérine . . . . .	108
— 6° Alcaloïdes des <i>Lupinus</i> . . . . .	110
— 7° Alcaloïdes des <i>Erythrina</i> . . . . .	112
— 8° Alcaloïdes de l' <i>Amorpha fruticosa</i> L. . . . .	114
— 9° Alcaloïdes du <i>Thermopsis fabacea</i> DC. . . . .	115
— 10° Alcaloïdes du <i>Baptisia australis</i> DC. . . . .	115
— 11° Alcaloïdes de Légumineuses diverses, <i>Acacia Farnesiana</i> Wall., <i>Sophora tomentosa</i> L. . . . .	115
<i>Ombellifères.</i> Conicine. . . . .	116
<i>Ternstræmiacées.</i> Caféine . . . . .	119
<i>Loganiacées.</i> 1° Strychnine et Brucine . . . . .	123
— 2° Gelsémine . . . . .	128
— 3° Curarine. . . . .	129
<i>Solanacées.</i> 1° Atropine et alcaloïdes voisins : . . . . .	
<i>Atropa Belladonna</i> L. . . . .	132
— <i>Hyoscyamus niger</i> L. . . . .	134
— <i>Datura Stramonium</i> L. . . . .	135

<i>Solanacées.</i>	<i>Scopolia japonica</i> Maxim. . . . .	136
—	2° Physaline . . . . .	137
—	3° Alcaloïdes du <i>Petunia violacea</i> Lindl. . . . .	137
—	4° Alcaloïdes du <i>Salpiglossis sinuata</i> Ruis et Pav. . . . .	138
—	5° Alcaloïdes du <i>Brunfelsia americana</i> L. . . . .	138
—	6° Alcaloïdes du <i>Nicandra physaloides</i> Gærtn. . . . .	138
—	7° Nicotine . . . . .	140
<i>Rubiacées.</i>	1° Alcaloïdes des <i>Cinchona</i> . . . . .	142
—	2° Emétine et Cephaline . . . . .	151
<i>Caprifoliacées.</i>	Alcaloïdes du <i>Sambucus Ebulus</i> L. . . . .	153
<i>Composées.</i>	Alcaloïdes des <i>Senecio</i> . . . . .	155
<b>B. — Gluco-alcaloïdes.</b> . . . . .		156
<i>Solanacées.</i>	Solanine. . . . .	156
<b>IV. — RÉSULTATS GÉNÉRAUX FOURNIS PAR LA LOCALISATION DES ALCALOÏDES.</b> . . . .		162

## DEUXIÈME PARTIE

## BIOLOGIE DES ALCALOÏDES PROPREMENT DITS

<b>I. — MODE DE FORMATION DES ALCALOÏDES</b> . . . . .	166
<b>II. — MIGRATION DES ALCALOÏDES.</b> . . . .	181
§ 1. Migration au cours de la végétation . . . . .	181
a) Variations des alcaloïdes dans les plantes adultes avec les conditions culturales . . . . .	181
b) Variations des alcaloïdes dans une plante adulte au cours de la végétation normale . . . . .	186
c) Variations provoquées sous l'influence de divers facteurs extérieurs . . . . .	196
1° Lumière . . . . .	196
2° Expériences d'annélation . . . . .	197
3° Influence de la nutrition azotée . . . . .	201
§ 2. Migration dans la greffe . . . . .	202
§ 3. Migration pendant la germination . . . . .	208
<b>III. — RÔLE DES ALCALOÏDES</b> . . . . .	217
§ 1. L'alcaloïde, substance de protection . . . . .	217
§ 2. L'alcaloïde, substance de déchet . . . . .	221
§ 3. L'alcaloïde, substance nutritive . . . . .	222
Valeur nutritive des alcaloïdes . . . . .	223

## BIOLOGIE DES GLUCO-ALCALOÏDES

Migration et rôle de la Solanine . . . . .	239
--------------------------------------------	-----

## GLUCOSIDES

## PREMIÈRE PARTIE

## LOCALISATION DES GLUCOSIDES

I. — CARACTÈRES ET CONSTITUTION DES GLUCOSIDÉS . . . . .	245
II. — LOCALISATION DES GLUCOSIDES . . . . .	254
§ 1. Historique . . . . .	254
§ 2. Méthodes générales de localisation . . . . .	257
III. — LOCALISATION ET RÉPARTITION DES GLUCOSIDES DANS LES DIVERSES FAMILLES. . . . .	261
A. — Glucosides non azotés. . . . .	261
<i>Conifères. Coniférine</i> . . . . .	261
<i>Liliacées. Aloïnes</i> . . . . .	262
<i>Iridacées. Crocine</i> . . . . .	264
<i>Salicacées. Salicine</i> . . . . .	264
<i>Thyméléacées. Daphnine</i> . . . . .	267
<i>Polygonacées. 1° Polygonine</i> . . . . .	270
— 2° Rhéopurgarine . . . . .	271
— 3° Glucosides des <i>Rumex</i> . . . . .	272
— 4° Quercitrine . . . . .	273
<i>Datisacées. Datisicine</i> . . . . .	274
<i>Renonculacées. 1° Glucosides des Clematis</i> . . . . .	276
— 2° Glucosides des <i>Anemone</i> . . . . .	276
— 3° Glucosides de l' <i>Eranthis</i> . . . . .	277
— 4° Adonidine . . . . .	277
— 5° Helléborine . . . . .	277
<i>Rutacées. 1° Rutine</i> . . . . .	280
— 2° Hespéridine . . . . .	281
<i>Térébinthacées. Fustine</i> . . . . .	286
<i>Coriariacées. Coriamyrtine</i> . . . . .	287
<i>Sapindacées. Esculine</i> . . . . .	288
<i>Rhamnacées. 1° Franguline</i> . . . . .	300
— 2° Xanthorhamnine . . . . .	301
— 3° Lokaine . . . . .	302
<i>Légumineuses. Sophorine</i> . . . . .	302
<i>Rosacées. Phloridzine</i> . . . . .	303
<i>Ericacées. 1° Arbutine</i> . . . . .	305
— 2° Andromédotoxine . . . . .	307
<i>Oléacées. 1° Syringine</i> . . . . .	309
— 2° Fraxine . . . . .	310
<i>Apocynacées. Strophanthine</i> . . . . .	314
<i>Labiacées. Scutellarine</i> . . . . .	315

<i>Cucurbitacées.</i> 1° Bryonine . . . . .	316
— 2° Colocynthine . . . . .	318
— 3° Elatéride . . . . .	319
<i>Rubiacées.</i> 1° Acide rubérythrique et glucosides de la ga- rance . . . . .	320
— 2° Chlorogénine . . . . .	325
<b>B. -- Glucosides azotés.</b> . . . . .	326
Glucosides à acide cyanhydrique . . . . .	326
Glucosides à sénévols . . . . .	337
Myronate de potasse . . . . .	337
<b>C. -- Saponines.</b> . . . . .	340
Caractères microchimiques . . . . .	340
Méthodes de localisation . . . . .	341
Répartition dans les végétaux . . . . .	343
<i>Smilax medica</i> Cham. et Schlecht. . . . .	343
<i>Paris quadrifolia</i> L. . . . .	343
<i>Yucca filamentosa</i> L. . . . .	344
<i>Chamælririum luteum</i> A. Gray. . . . .	344
<i>Saponaria officinalis</i> L. . . . .	344
<i>Gypsophila paniculata</i> L. . . . .	344
<i>Herniaria glabra</i> L. . . . .	344
<i>Agrostemma Githago</i> L. . . . .	345
<i>Polygala Senega</i> L. . . . .	345
<i>Sapindus utilis</i> Trab. . . . .	345
<i>Æsculus Hippocastanum</i> L. . . . .	345
<i>Xanthoceras sorbifolia</i> Bunge . . . . .	345
<i>Kæbreuteria paniculata</i> Laxm. . . . .	345
<i>Quillaya Saponaria</i> Mol. . . . .	346
<i>Cyclamen europæum</i> L. . . . .	346
<i>Primula officinalis</i> L. . . . .	346
<b>IV. -- RÉSULTATS GÉNÉRAUX FOURNIS PAR LA LOCALISATION DES GLUCO- SIDES</b> . . . . .	347

## DEUXIÈME PARTIE

## BIOLOGIE DES GLUCOSIDES NON AZOTÉS

<b>I. -- MODE DE FORMATION DES GLUCOSIDES.</b> . . . . .	350
<b>II. -- MIGRATION DES GLUCOSIDES.</b> . . . . .	350
<b>III. -- RÔLE DES GLUCOSIDES.</b> . . . . .	372
1. Le glucoside, substance de protection . . . . .	372
2. Le glucoside, substance alimentaire . . . . .	372
Valeur nutritive des glucosides . . . . .	373
3. Le glucoside, substance de déchet . . . . .	378

**BIOLOGIE DES GLUCOSIDES AZOTÉS CYANOGENÉTIQUES**

I. — MODE DE FORMATION DES GLUCOSIDES CYANOGENÉTIQUES . . . . .	389
a) Concordance entre la répartition de la chlorophylle et de l'acide cyanhydrique. . . . .	389
b) La formation des glucosides cyanhydriques se trouve sous la dépendance des radiations lumineuses . . . . .	390
c) Rôle des hydrates de carbone. . . . .	391
d) Rôle des nitrates . . . . .	393
e) Rôle de la transpiration . . . . .	394
f) Rôle de la spécificité héréditaire . . . . .	396
II. — MIGRATION DES GLUCOSIDES CYANOGENÉTIQUES. . . . .	399
III. — RÔLE DES GLUCOSIDES CYANOGENÉTIQUES . . . . .	402
VALEUR NUTRITIVE DES GLUCOSIDES CYANOGENÉTIQUES. . . . .	402
CONCLUSIONS. . . . .	409
TABLE DES PLANCHES ET FIGURES. . . . .	413
TABLE DES ESPÈCES BOTANIQUES . . . . .	419
TABLE DES AUTEURS . . . . .	427
TABLE DES MATIÈRES . . . . .	443



