

46. Sur la provenance de la sarmentocymarine: *Strophanthus spec. var. sarmentogenifera* No MPD 50

(communication préliminaire).

Hétérosides et génines, 68e communication¹⁾

par J. v. Euw., F. Reber et T. Reichstein.

(13 XI 50.)

Nous avons commencé, il y a une dizaine d'années, l'étude systématique des hétérosides des différentes espèces de *Strophanthus*. La guerre nous a empêché de nous procurer du matériel authentique au point de vue botanique et aujourd'hui même, il est encore très difficile de l'obtenir. D'après les renseignements de la littérature, l'Afrique fournit à elle seule environ 33 espèces de *Strophanthus*²⁾³⁾⁴⁾; 1—2 espèces se trouvent à Madagascar et environ une douzaine en Asie (Indes, Chine, Ceylan, Iles de la Sonde et Philippines)²⁾.

Des différents éléments de ces plantes, seules les graines constituent un matériel de recherche convenable⁵⁾. Elles ont l'inconvénient de ne pouvoir être récoltées que pendant la période relativement courte de la maturité et souvent dans des endroits peu accessibles. Il faut attendre sur place l'époque favorable, ce qui peut causer des pertes de temps considérables. La récolte systématique de ces graines exige donc en règle générale une expédition spécialement équipée. Faute de tels moyens, on doit s'en remettre aux institutions existant sur place, telles que les Administrations des Forêts et de l'Agriculture qui disposent d'aide et de la main-d'œuvre indigène, pour autant que le contrôle botanique soit assuré par une personne qualifiée. Il est d'autre part bien compréhensible que ces institutions publiques aient en général d'autres tâches et qu'elles doivent aussi prendre en considération leurs intérêts nationaux. Elles ne pourront donc être qu'exceptionnellement en mesure de fournir des espèces particulières de *Strophanthus*. Nous sommes d'autant plus heureux d'avoir cependant pu bénéficier de l'aide très précieuse principalement de milieux anglais, français, portugais et dernièrement aussi américains. Grâce à cette aide, mais surtout grâce à l'activité du Père J. Gerstner (†) ainsi qu'aux deux expéditions

¹⁾ 67e communication: O. Schindler & T. Reichstein, Helv. **34**, 18 (1951).

²⁾ E. Gilg, *Strophanthus*, dans A. Engler, Monographien afrikanischer Pflanzengattungen (Leipzig 1903), où l'on trouve également les références sur la littérature antérieure.

³⁾ P. Staner & D. Michotte, Révision des espèces congolaises du genre *Strophanthus* P.D.C., Bull. du Jardin Botanique de l'Etat, Bruxelles **13**, 23 (1934).

⁴⁾ B. A. Krukoff & R. Letouzay, Contribution à la connaissance du genre *Strophanthus* au Cameroun français et au Gabon, Rev. internation. de Bot. Appl. et d'Agriculture Tropicale **30**, N° 329—330, 121 (mars-avril 1950).

⁵⁾ Les feuilles, les branches, l'écorce, le tronc, les racines et les coquilles des fruits contiennent aussi des hétérosides, mais en quantité beaucoup plus faible, et l'extraction en est difficile. Le suc serait par contre certainement avantageux, mais il ne nous a pas été possible jusqu'à présent d'en obtenir suffisamment. Des observations semblables ont été rapportées par J. W. Rothrock, E. E. Howe, K. Florey & M. Tishler, Am. Soc. **72**, 3827 (1950).

organisées par l'Institut de Pharmacie de l'Université de Bâle¹⁾, nous avons réussi à obtenir jusqu'à présent 20 des différentes espèces africaines de *Strophanthus*. De ces dernières, 12 ont déjà été étudiées d'une façon approfondie tandis que 5 autres, étant donné le peu de matériel dont nous disposions, ne l'ont été que provisoirement²⁾.

Ces recherches présentent un double intérêt, scientifique et pratique. Le second a gagné en importance depuis que l'on s'efforce à trouver une matière première propre à une avantageuse synthèse partielle de la cortisone.

En 1947 *Katz*³⁾ prouvait que la sarmentogénine constitue la lactone-23 → 21 de l'acide tétrahydroxy-3β,11α,14,21-iso-14-norcholène-20,22-oïque-23. Il confirmait ainsi, tout en précisant la configuration, la formule proposée par *Tschesche & Bohle*⁴⁾. La sarmentocymarine devenait dès lors la matière première de choix pour la synthèse de corticostéroïdes possédant un substituant oxygéné en position 11.

Un de ces derniers, nommé récemment cortisone, a passé au premier plan de l'actualité médicale à la suite des travaux de *Hench* et de ses collaborateurs⁵⁾. La synthèse partielle de ce corps se heurte à des difficultés techniques considérables. De ce fait d'autres cercles aussi, surtout américains, ont entrepris sur une grande échelle la recherche de *Strophanthus* susceptibles de livrer des hétérosides de la sarmentogénine.

Comme en témoignent plusieurs travaux⁶⁾, l'espèce de *Str.* produisant la sarmentocymarine devait être considérée comme inconnue jusqu'à présent. *Jacobs & Heidelberger*⁷⁾ ont été les premiers à isoler la sarmentocymarine avec un rendement de 0,4% à partir de graines faussement nommées *Str. hispidus*. Ces deux auteurs admirent qu'il s'agissait de *Str. sarmentosus* et donnèrent de bonnes raisons à l'appui de cette opinion. Par la suite, *Tschesche & Bohle*⁴⁾ obtinrent également de la sarmentocymarine à partir d'une drogue commerciale

¹⁾ Voir *J. v. Euw*, *A. Katz*, *J. Schmutz* & *T. Reichstein*, Festschrift Prof. *Paul Casparis*, p. 178 (Zürich 1949). Grâce à l'obligeance des Autorités Bâloises ainsi qu'à l'aide généreuse de la CIBA, Société Anonyme à Bâle, l'Institut de Pharmacie de l'Université de Bâle a pu organiser une nouvelle expédition, partie au mois de janvier 1950 avec mission de recueillir encore une fois des plantes médicinales et vénéneuses en Afrique tropicale.

²⁾ Espèces de *Str.* qui ont déjà fait l'objet de mémoires: *S. kombé*, *S. Nicholsonii*, *S. sarmentosus*, *S. speciosus*, *S. Gerrardi*, *S. hypoleucus*, *S. Courmontii*, *S. Emini*, *S. Petersianus* (ainsi que la variété *S. grandiflorus*), *S. hispidus*.

³⁾ *A. Katz*, *Helv.* **31**, 993 (1948).

⁴⁾ *R. Tschesche & K. Bohle*, *B.* **69**, 2497 (1936).

⁵⁾ *P. S. Hench*, *E. C. Kendall*, *C. H. Slocumb* & *H. F. Polley*, Proc. Staff Meetings Mayo Clinic **24**, 181 (1949); *P. S. Hench*, *C. H. Slocumb*, *A. R. Barnes*, *H. L. Smith*, *H. G. Polley* & *E. C. Kendall*, Proc. Staff Meetings Mayo Clinic **24**, 272 (1949).

⁶⁾ *J. v. Euw*, *A. Katz*, *J. Schmutz* & *T. Reichstein*, Festschrift für Prof. *Paul Casparis*, S. 178 (Zürich 1949); *A. Buzas*, *J. v. Euw* & *T. Reichstein*, *Helv.* **33**, 465 (1950); *J. Monachino*, J. of the New York Botanical Garden **51**, 25, 233 (1950).

⁷⁾ *W. A. Jacobs* & *M. Heidelberger*, *J. Biol. Chem.* **81**, 765 (1929).

vendue sous le nom erroné de *Str. hispidus*, drogue qu'ils supposèrent être du *Str. Preussi Engl.* et *Pax* ou *Str. Barteri Franch.* De même *Katz*¹⁾ isola également de la sarmentocymarine à partir d'un produit falsifié analogue. On ignore naturellement si ces produits falsifiés étaient les mêmes dans les trois cas cités.

Comme indiqué il y a quelques temps déjà²⁾, nous avons étudié 12 échantillons d'authentiques graines de *Str. sarmentosus P.DC.* provenant de l'est de la Côte d'Ivoire, du Territoire de Togo, de la Côte d'Or et du Nigeria. Nous n'avons pu y déceler que des traces de sarmentocymarine; il s'y trouvait par contre en abondance un nouveau hétéroside que nous avons appelé sarvérösido. Entre temps *Rothrock* et ses collaborateurs³⁾ ont obtenu des résultats semblables à partir de *Str. sarmentosus* d'autre provenance. Par contre nos recherches systématiques ont montré que d'autres *Strophanthus*, tels que *Str. Gerrardi*⁴⁾, *Str. Courmontii*⁵⁾⁶⁾ et *Str. Petersianus*⁷⁾ ainsi que la variété *Str. grandiflorus* contiennent des quantités notoires de sarmentocymarine. Toutefois ces 3 espèces ne constituent pas une source avantageuse de ce hétéroside et ne se prêtent pas à des cultures. Les *Str. Gerrardi* et *Courmontii* contiennent relativement peu de sarmentocymarine (au maximum 0,2%) mélangée à du sarvérösido, ce qui augmente les difficultés de préparation de produits purs. Quand au *Str. Petersianus*, il fournit, il est vrai facilement, de la sarmentocymarine pure, mais les rendements sont encore plus faibles (à peine 0,1%).

Enfin nous avons reçu il y a quelque temps des graines d'une espèce de *Str.* (voir figure) qui ont donné à l'analyse des résultats très semblables à ceux de *Jacobs & Heidelberger* ainsi qu'à ceux de *Katz*. Ces graines contenaient environ 0,4% de sarmentocymarine pure et pas de sarvérösido (voir ci-dessous la description des produits satellites). Ce *Strophanthus* constitue très probablement une variété locale, dont l'identification botanique n'est pas encore complètement achevée. Nous l'appellerons provisoirement *Strophanthus spec. var. sarmentogenifera N° MPD 50.*

Nous communiquerons aussitôt que possible tous renseignements utiles sur l'origine exacte des plantes, leur distribution géographique ainsi que leur classification botanique. Ces détails seront publiés en

¹⁾ A. Katz, Helv. 31, 993 (1948). L'échantillon étudié sera appelé provisoirement *Strophanthus spec. var. sarmentogenifera* Nr. BSAK 11247.

²⁾ J. v. Euw, A. Katz, J. Schmutz & T. Reichstein, Festschrift für Prof. Paul Casparis, S. 178 (Zürich 1949); A. Buzas, J. v. Euw & T. Reichstein, Helv. 33, 465 (1950).

³⁾ J. W. Rothrock, E. E. Howe, K. Floray & M. Tishler, Am. Soc. 72, 3827 (1950).

⁴⁾ J. v. Euw & T. Reichstein, Helv. 33, 522 (1950).

⁵⁾ J. v. Euw & T. Reichstein, Helv. 33, 1006 (1950).

⁶⁾ Rothrock et coll., loc. cit.

⁷⁾ J. v. Euw & T. Reichstein, Helv. 33, 1551 (1950).

collaboration avec les collègues qui, aussi bien dans la récolte que dans le contrôle des graines, nous ont apporté une aide aussi précieuse que prévenante.

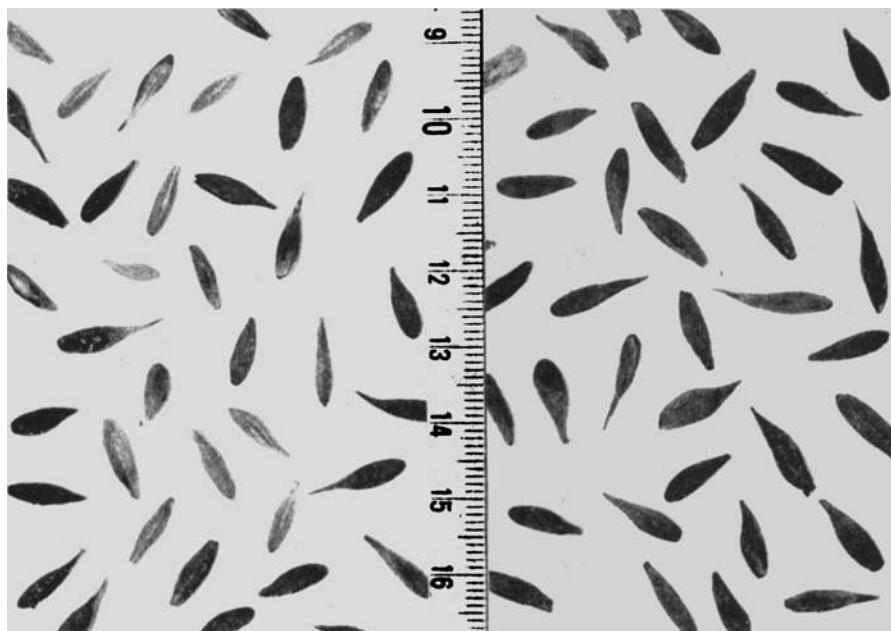


Fig. 1.

Graines de *Strophanthus* species var.
sarmentogenifera MPD 50.

Fig. 2.

Graines de *Strophanthus sarmentosus*
P. DC. du Territoire de Togo
(*Walkowiak*).

Il nous paraît pour le moment préférable de ne pas indiquer l'origine exacte des graines. L'étendue où l'on trouve ce *Strophanthus* n'a pas encore été délimitée complètement. Elle semble cependant assez restreinte. Nous désirons éviter le pillage de ces plantes avant que leur étude complète soit terminée et avant qu'elles soient mises en culture. Nous pensons que cette façon de faire ne peut que servir l'intérêt général. Au surplus on ne pourra obtenir de la sarmentocymarine en quantité appréciable à partir de ce *Strophanthus* qu'à la condition de le cultiver sur une grande échelle et, même en cas de succès, les plantations ne pourront donner leur première bonne récolte qu'au bout de 4 ans.

Préparation des extraits.

Cette opération a été effectuée exactement d'après la méthode indiquée précédemment¹⁾, c'est-à-dire en renonçant à isoler les hétéro-

¹⁾ A. Buzas, J. v. Euw & T. Reichstein, Helv. **33**, 465 (1950).

sides natifs riches en sucre, et en soumettant directement les extraits à l'action des fermentes contenus dans les graines. Pour éviter la présence nuisible des fermentes allomérisants (insolubles dans l'eau), seuls les fermentes solubles dans l'eau furent utilisés. Après purification usuelle au moyen de Pb(OH)_2 , nous avons séparé le mélange des monosides en 3 fractions par extraction à l'éther, au chloroforme et au mélange chloroforme-alcool-(2:1)¹⁾. Nous avons ainsi obtenu à partir de 500 g de graines les fractions suivantes: 119 g (= 23,8%) d'extrait d'éther de pétrole (huile grasse), 2,392 g (= 0,4785%) d'extrait d'éther, 2,895 g (= 0,579%) d'extrait de chloroforme et 7,850 g (= 1,57%) d'extrait de chloroforme-alcool-(2:1).

Séparation des glucosides.

Par cristallisation directe de l'extrait étheré, nous avons obtenu de la sarmentocymarine pure qui pour la première fois nous apparut sous forme de cristaux anhydres et de point de fusion élevé³⁾. Par purification chromatographique les eaux-mère donnèrent encore une certaine quantité du même glucoside, seule substance cristallisable jusqu'à présent.

La séparation chromatographique des extraits chloroformiques nous permit d'isoler d'abord encore un peu de sarmentocymarine, puis une deuxième substance, probablement un nouveau hétéroside, que nous avons nommé provisoirement substance N° 799.

L'extrait obtenu par le mélange chloroforme-alcool-(2:1) cristallisa au bout d'un certain temps après dissolution dans un peu d'alcool méthylique et d'éther. Après recristallisation jusqu'à F. constant, les cristaux fondirent à environ 227—229°. Nous désignerons provisoirement ces cristaux sous le nom de cristallisat N° 804, en faisant remarquer qu'il s'agit probablement d'un mélange.

En résumé nous avons obtenu à partir de 500 g de graines les quantités suivantes de substances cristallisées: 1,821 g (= 0,364%) de sarmentocymarine, 0,614 g (= 0,123%) de la substance N° 799 ainsi que 2,09 g (= 0,42%) du cristallisat N° 804.

Une seconde charge à partir d'un kilogramme de graines nous a donné des résultats analogues.

Substance N° 799.

Comme indiqué plus haut, il s'agit probablement d'un nouveau produit, ce qui demande encore à être confirmé. La formule $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_9$, avec un groupe méthoxyle, correspond le mieux aux résultats de

¹⁾ Proportion des volumes.

²⁾ Recommandé par *A. Stoll, J. Renz & W. Kreis*, Helv. **20**, 1484 (1937), pour l'extraction de la phase aqueuse des glucosides qui y sont très solubles.

³⁾ Voir photographie dans l'article de *J. v. Euw & T. Reichstein*, Helv. **33**, 1551 (1950).

l'analyse. Le spectre d'absorption UV. d'une solution alcoolique possède un maximum (voir courbe) à environ $217 \text{ m}\mu$ avec $\log \epsilon = 4,22$ (calculé sur la base de la formule ci-dessus), ce qui correspond bien au poids moléculaire correspondant à cette formule. La réaction de *Keller & Kiliani* est négative. Si la formule proposée ci-dessus devait se confirmer, cette substance serait un isomère de l'émicymarine et posséderait probablement une génine répondant à la formule $C_{23}H_{34}O_5$. M. K. K. *Chen*¹⁾ a eu l'amabilité de mesurer l'action biologique de ce hétéroside sur le chat. Il a trouvé comme moyenne géométrique de la dose létale sur 10 animaux $0,1489 \pm 0,0107 \text{ mg/kg}$; cette substance a donné un acétate correspondant à la formule $C_{34}H_{50}O_{11}$.

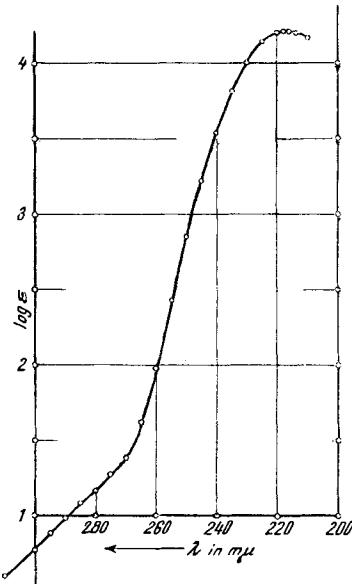


Fig. 3.

Spectre d'absorption dans l'ultraviolet de la substance N° 799 dans l'alcool²⁾.

Cristallisat N° 804.

Ce cristallisat ressemble par ses propriétés au sarmentoside A; il possède cependant un point de fusion inférieur et un pouvoir rotatoire lévogyre légèrement plus faible. Nous pensons qu'il ne s'agit pas d'un produit homogène mais au contraire d'un mélange. Il contient toutefois une quantité importante de sarmentoside A, car par purification chromatographique de son produit d'acétylation nous avons

¹⁾ Nous désirons exprimer ici-même à M. K. K. *Chen*, Indianapolis, nos meilleurs remerciements pour nous avoir communiqué ces résultats.

²⁾ Déterminé par M. P. *Zoller*, Institut de Chimie organique de l'Université de Bâle, au moyen d'un spectrophotomètre *Beckman* quartz, modèle DU.

obtenu avec un rendement de 30% environ un acétate cristallisant en fines aiguilles, F. 165—167°, et qui s'est montré identique à l'acétate du sarmentoside A¹). Toutefois ces résultats ne peuvent pas encore être considérés comme définitifs, car la pureté du cristallisat désigné jusqu'à présent par le nom de sarmentoside A est très douteuse.

Discussion des résultats.

Bien que les teneurs en sarmentocymarine des deux *Strophanthus* species N° BSAK 11247 et MPD 50 soient voisines, les résultats acquis à l'heure actuelle en ce qui concerne les autres glucosides ne permettent pas de conclure à l'identité de ces deux espèces. Les extraits éthérés et chloroformiques du N° BSAK 11247 n'avaient donné en son temps que de la sarmentocymarine tandis que l'extrait obtenu par le mélange chloroforme-alcool ne fournissait les sarmentosides A et B qu'après son hydrolyse partielle. Des extraits éthérés du N° MPD 50 on retira uniquement de la sarmentocymarine, et des extraits chloroformiques un peu de la substance N° 799. Comme d'une part, cette dernière substance ne se trouvait qu'en petite quantité dans le N° MPD 50 et que d'autre part les recherches effectuées sur le N° BSAK 11247 ne portaient que sur un très petit échantillon, il n'est pas exclu que ces dernières graines aient contenu aussi la substance N° 799, mais en quantité si minime qu'elle aura passé inaperçue lors de l'extraction. La différence observée entre les cristallisats des deux extraits chloroforme-alcool-(2:1) doit encore être élucidée en tenant compte, d'abord du fait que les deux extractions n'ont pas été effectuées exactement dans les mêmes conditions, et ensuite, de ce que le cristallisat nommé jusqu'à présent sarvéroside A constitue probablement un mélange.

En résumé on peut dire que l'étude des deux *Strophanthus* N° BSAK 11247 et N° MPD 50 a donné des résultats chimiques très semblables, et que les petites divergences observées et qui demandent encore à être éclaircies, sont peut-être dues simplement à de petites différences dans la méthode de travail.

La variété *Strophanthus* MPD 50 est aujourd'hui la meilleure source connue de sarmentocymarine et devrait par conséquent être cultivée. Les graines qui ont fait l'objet des présentes recherches étaient en partie mal mûres ce qui permet de penser que des graines parfaitement mûres auraient donné un rendement supérieur. En outre, par la sélection des meilleurs éléments comme éventuellement par des essais de croisement, il serait peut-être possible d'améliorer encore les rendements.

Nous remercions Monsieur le professeur *Th. Posternak* ainsi que MM. *A. Lardon* et *J. R. Billeter* de l'aide précieuse apportée à la rédaction du manuscrit.

¹⁾ *J. Schmutz & T. Reichstein, Helv. 34, (1951) (à l'impression).*

Partie expérimentale.

Tous les points de fusion ont été déterminés au bloc de *Kofler* et sont corrigés; limite d'erreur $\pm 2^\circ$ jusqu'à 200° , $\pm 3^\circ$ au-dessus. Les échantillons destinés à la mesure du pouvoir rotatoire ont été séchés 1 h à 60° dans le vide poussé, ceux destinés à l'analyse à 100° , sur P_2O_5 dans le vide poussé, pendant les temps indiqués. «Purification usuelle» signifie: évaporation dans le vide, addition d'eau, extraction au chloroforme (ou chloroforme-éther), lavage à l'eau, à l'acide chlorhydrique, au carbonate de sodium, à l'eau, séchage sur Na_2SO_4 et évaporation.

Réaction colorée des graines.

Les graines de *Strophanthus spec. var. sarmentogenifera* N° MPD 50 (voir figure dans la partie théorique) étaient inégalement mûres. (Le 30% environ n'était pas mûr.) Des essais de germination ont montré¹⁾ que la moitié d'entre elles avaient conservé leur pouvoir germinatif. Les graines n'avaient que des poils très courts. Les exemplaires mûrs étaient bruns, la couleur des exemplaires mal mûrs variait du jaune au verdâtre. Toutes les graines avaient un goût très amer. Pour les réactions colorées suivantes, nous avons préparé au moyen du microtome des coupes de 0,05 mm d'épaisseur prises dans la partie médiane des graines les plus mûres. Ces coupes ont été placées sur un porte-objet, traitées par 2 gouttes de H_2SO_4 à 80% et, sans être recouvertes d'une lamelle, examinées par transparence au microscope (agrandissement 50 \times , à la lumière du jour). Les colorations varièrent d'une façon un peu différente pour chaque coupe, comme on l'a souvent observé dans d'autres cas pour différentes graines de la même espèce. Nous donnons ci-dessous les observations faites sur deux graines du N° MPD 50, ainsi qu'à titre de comparaison les colorations obtenues dans les mêmes conditions tout d'abord avec les deux espèces de graines inconnues qui ont donné de la sarmentocymarine pure, puis avec une graine de *Strophanthus sarmentosus* P. DC. du Togo.

N = MPD 50, premier essai.

Temps	Endosperme	Cotylédons
0 minutes	incolore	incolore
1 minute	jaunâtre et rose-clair	jaunâtre et rose
2 minutes	jaune-brunâtre et rose	jaune-brun, rose et violet
5 minutes	brunâtre-rose	rose et violet
10 minutes	orange-rose	lila et violet
30 minutes	rose	lila et violet
60 minutes	rose	violet
120 minutes	rose-pâle	bleu-gris pâle

«Lila» signifie rougeâtre-violet, «violet» tendance vers le bleu-violet; jaune, brunâtre et rose signifient que les 3 couleurs existent simultanément, etc.

¹⁾ Un des auteurs de ce mémoire (*T. R.*) a semé 50 graines d'un échantillon moyen en juillet 1950, dans une terre sablonneuse (environ 30% de sable, 20% de terre franche argileuse, 30% de terreau de feuilles, 10% de tourbe et 10% de tuf calcaire pulvérisé). Cette culture fut placée dans une serre. Au bout de 10 jours, 26 plantes avaient germé et ont normalement prospéré jusqu'à aujourd'hui.

Nº MPD 50, second essai.

Temps	Endosperme	Cotylédons
1 minute	jaunâtre et rose	jaunâtre et rose
2 minutes	jaune-brun et rose	brun-jaune et rose-lila
5 minutes	jaune-brun et rose	rose à lila-violet
10 minutes	orange-rose	lila et violet-clair
20 minutes	lila et violet	lila-violet
60 minutes	lila	violet (bleuâtre)
120 minutes	gris avec nuance lila	bleu et bleu-gris
180 minutes	gris avec nuance lila	bleu et bleu-gris
5 heures	gris-clair	bleu-gris

Graines Nº BSAK 11247 (fournies par la S. A. ci-devant *B. Siegfried* à Zofingue et desquelles *Katz*¹) isolé en son temps env. 0,4% de sarmentocymarine).

Temps	Endosperme	Cotylédons
0 minutes	incolore	jaunâtre
1 minute	jaune	jaune
2 minutes	jaune et rouge	jaune et rouge
5 minutes	jaune et rose-foncé	orange-jaune et rose-foncé
10 minutes	rose-pâle	brunâtre et lila
20 minutes	rose-pâle	lila-violet
30 minutes	incolore	lila et bleu
60 minutes	verdâtre pâle	bleu et vert
120 minutes	verdâtre pâle	bleu-vert

Echantillon fourni par le Dr Munch et à partir duquel Jacobs & Heidelberger isolèrent environ 0,4% de sarmentocymarine²).

Temps	Endosperme	Cotylédons
0 minutes	jaunâtre	
1 minute	partiellement rougeâtre-brun	jaunâtre pâle avec nuance verte
2 minutes	partiellement rougeâtre-brun	jaunâtre pâle avec nuance verte
5 minutes	partiellement rougeâtre-brun	jaunâtre pâle avec nuance verte
10 minutes	partiellement rougeâtre-brun	jaunâtre pâle avec nuance verte
15 minutes	brun-gris pâle	gris-clair—violet-clair
30 minutes	gris-clair	bleu-clair
60 minutes	gris-clair	bleu-clair et vert-clair
120 minutes	gris-clair	bleu et vert-clair

¹⁾ *A. Katz*, Helv. 31, 993 (1948).

²⁾ Nous remercions M. J. Monachino du «Botanical Garden New York» de nous avoir fait parvenir 3 graines de cet échantillon.

Strophanthus sarmentosus P. DC. du Togo (échantillon «Walkowiak»)¹⁾.

Temps	Endosperme	Cotylédons
0 minutes	incolore	incolore
1 minute	jaunâtre nuance verte	jaunâtre nuance rose
2 minutes	verdâtre-jaune et rose	jaune et rose
5 minutes	partiellement incolore, partiellement rose	orange-jaune et rose
10 minutes	partiellement incolore, partiellement rose	brun-orange et rose
20 minutes	bleuâtre et rose	rose et violet
30 minutes	bleu et rose	lila-violet et bleu
60 minutes	rose	bleu et faiblement lila
90 minutes	rose pâle	bleu
120 minutes	rose pâle	bleu

La coloration des cotylédons est plus constante que celle de l'endosperme. Malgré cela, les différences observées dans les variations des couleurs des graines de la même espèce sont assez considérables. Il n'est donc presque pas possible de tirer des conclusions définitives de ces réactions colorées. On constate toutefois que les 3 premiers essais témoignent d'une certaine unité tandis que le dernier (*Strophanthus sarmentosus P. DC.*) s'en écarte un peu.

Préparation des extraits.

500 g de graines furent séchés 4 jours dans le vide en présence de CaCl_2 . Perte de poids 16 g (= 3,2%). Les graines sèches furent ensuite soumises à l'extraction selon la méthode indiquée dans les cas précédents²⁾. Quelques cristaux se déposèrent déjà pendant le séchage de la solution de l'extrait éthétré. Ils furent redissous dans de l'acétone et réunis au reste de l'extrait éthétré. Nous avons ainsi obtenu au total: 119 g (= 23,8%) d'extrait par l'éther de pétrole (huile grasse), 2,392 g (= 0,4785%) d'extrait par l'éther, 2,895 g (= 0,579%) d'extrait par le chloroforme et 7,850 g (= 1,570%) d'extrait par le mélange chloroforme-alcool (2:1). La phase aqueuse restante n'était plus amère et fut jetée.

Séparation des produits extraits par l'éther.

Les 2,3925 g d'extrait brut furent dissous dans un mélange d'alcool méthylique et d'éther; bien qu'amorcés au moyen de sarvérösida ils ne donnèrent lieu à aucune cristallisation. Par contre redissous dans l'acétone et l'éther, ce produit brut cristallisa spontanément et donna 1,652 g (= 0,334%) de sarmentocymarine, sous forme de rosettes incolores, F. 205—207° (forme anhydre). Les eaux-mères furent ensuite chromatographiées sur 22 g d' Al_2O_3 ³⁾ débarrassé de toute trace d'alcali. La séparation fut obtenue par élution au moyen de prises successives de 75 cm³ de solvant.

Les fractions 1—10 (eluées par le benzène et le mélange benzène-chloroforme jusqu'à 60% de chloroforme) donnèrent au total 102 mg d'un produit huileux (jeté). Les

¹⁾ A. Buzas, J. v. Euw & T. Reichstein, Helv. **33**, 465 (1950), indiquent des colorations un peu différentes. On observe aussi des différences entre les graines d'un seul et même fruit. Ces réactions colorées semblent être assez sensibles à la température ambiante et à l'humidité de l'air.

²⁾ A. Buzas, J. v. Euw & T. Reichstein, Helv. **33**, 465 (1950).

³⁾ Préparé d'après J. v. Euw, A. Lardon & T. Reichstein, Helv. **27**, 1287 (1944), p. 1294.

fractions 11 et 12 (éluées par le chloroforme seul) donnèrent 109 mg de résidu; ce dernier cristallisé dans le mélange humide d'alcool méthylique et d'éther nous donna encore 55 mg de dihydrate de sarmentocymarine. La fraction 13 (éluée également par le chloroforme seul) ne donna plus que des traces de sarmentocymarine. Les fractions 13—18 (éluées par le mélange chloroforme-méthanol) ainsi que les fractions 19—22 (éluées par le mélange chloroforme, méthanol, acétate d'éthyle additionné de 0,5—1,5% d'acide acétique glacial) donnèrent au total 245 mg de résidu brun amorphe.

Séparation des produits extraits par le chloroforme.

Les 2,895 g d'extrait n'ayant pas cristallisés spontanément, furent chromatographiés sur 87 g d' Al_2O_3 exempt d'alcali. Elution des différentes fractions au moyen de prises de 300 cm³ des solvants indiqués dans le tableau suivant.

Numéros des fractions	Solvants	Résidus	
		quantité	genre
1	benzène-chloroforme (2:3) ¹⁾	42 mg	huile
2—3	benzène-chloroforme (2:3)	338 mg	114 mg crist.
4	chloroforme	531 mg	amorphe
5—6	chloroforme	391 mg	230 mg crist.
7—8	chloroforme	160 mg	traces de crist.
9	chloroforme-méthanol (99:1)	154 mg	3 mg crist.
10	chloroforme-méthanol (98:2)	581 mg	260 mg crist.
11	chloroforme-méthanol	305 mg	120 mg crist.
12—14	chloroforme-méthanol (92:8) (85:15) (70:30)	46 mg	amorphe
15—18	chloroforme-méthanol-acétate d'éthyle + 0%, 0,5%, 1,5% d'acide acétique glacial	160 mg	amorphe

Les fractions 2—3 cristallisées dans un mélange d'acétone et d'éther donnèrent 114 mg de sarmentocymarine pure, F. 202—205°.

Les fractions 5—6 dissoutes dans un mélange d'alcool méthylique et d'éther donnèrent 234 mg de la substance N° 799 à l'état brut.

Les fractions 7—11 cristallisèrent de préférence dans le mélange acétone-éther et après amorçage par la substance N° 799. Elles donnèrent 380 mg de ce dernier produit, F. 223—225°.

Quant à la fraction 4 et aux eaux-mères des fractions 5—11 et 12—14 elles ne livrèrent plus de cristaux, même après amorçage de leur solution dans le mélange méthanol-éther par la substance N° 762²⁾.

Séparation des produits extraits par le mélange chloroforme-alcool (2:1).

4,91 g d'extrait (correspondant à 313 g de graines non séchées) dissous dans un mélange d'alcool méthylique et d'éther cristallisèrent très lentement; après plusieurs semaines nous avons obtenu 1,31 g (0,419%) d'un cristallisat brut N° 804, se présentant sous forme de rosettes, F. 225—235°.

En résumé, les rendements à partir de 500 g de graines non séchées s'élèvent ainsi à 1,821 g (= 0,364%) de sarmentocymarine, 0,614 g (= 0,123%) de produit N° 799 ainsi qu'à 2,09 g (= 0,42%) de cristallisat N° 804 (sur la base des résultats indiqués ci-dessus, mais calculé pour 500 g de graines).

¹⁾ Rapport des volumes.

²⁾ J. v. Euw & T. Reichstein, Helv. 33, 522 (1950).

Identification de la sarmentocymarine.

Elle cristallisa dans le mélange acétone-éther en petites plaques réunies en forme de rosettes. F. 205—207° (forme anhydre). Dans le mélange humide alcool méthylique-éther, elle cristallisa sous la forme de dihydrate en prismes épais et courts, fondant une première fois à 125—130°, recristallisant partiellement vers 180° pour fondre définitivement à 200—208°. $[\alpha]_D^{24} = -12,7^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,1289$ dans le méthanol).

21,489 mg de subst. dans le méthanol, vol. total = 1,0094 cm³;

$$l = 1 \text{ dm}; \alpha_D^{24} = -0,27^\circ \pm 0,02^\circ$$

L'échantillon destiné à l'analyse fut séché 3 h.

3,202 mg de subst. ont donné 7,929 mg de CO₂ et 2,543 mg de H₂O (OAB)

C₃₀H₄₆O₈ (534,69) Calculé C 67,39 H 8,67% Trouvé C 67,58 H 8,88%

Réaction de *Legal*: positive (rouge); réaction de *Keller-Kiliani*: positive (bleue).

Par cristallisation d'un échantillon authentique de sarmentocymarinc¹) dans le mélange acétone-éther, nous avons obtenu également des cristaux anhydres F. 205—207° qui, recristallisés dans le mélange humide d'alcool méthylique et d'éther, ont redonné le dihydrate connu. Le F. d'un mélange de cristaux (F. le plus élevé) provenant d'une part de notre échantillon de graines et d'autre part du produit préparé par Jacobs (F. le plus élevé) n'a pas donné de dépression. Les réactions colorées à H₂SO₄ 80% furent exactement identiques.

Dibenzoate. 80 mg de sarmentocymarine extraite des graines citées ci-dessus (MPD 50) furent dissous à 0° dans 1 cm³ de pyridine abs., additionnés de 0,2 cm³ de chlorure de benzoyle (coloration rouge), puis abandonnés 2 1/2 h à l'abri de l'humidité. Après addition de 0,2 cm³ d'alcool méthylique on laissa reposer 1 h. Par purification usuelle on obtint 180 mg d'un produit neutre qui fut chromatographié sur Al₂O₃. Les fractions élues par le mélange benzène-chloroforme (4:1) et (1:1) fournirent un résidu qui, cristallisé dans le mélange alcool méthylique éther, donna 68 mg de cristaux incolores (feuilllets) F. 264—266°. Le F. du mélange avec un échantillon de produit authentique²) ne donna pas de dépression.

Substance № 799.

Petits cristaux incolores obtenus par cristallisation dans le mélange méthanol-éther.

F. 223—225° $[\alpha]_D^{22} = +6,9^\circ \pm 1,5^\circ$ ($c = 1,8947$ dans le méthanol).

19,125 mg de subst. dans le méthanol, vol. total = 1,0094 cm³;

$$l = 1 \text{ dm}; \alpha_D^{22} = +0,13 \pm 0,02^\circ$$

L'échantillon destiné à l'analyse fut séché 5 heures.

3,293 mg de subst. ont donné 7,918 mg de CO₂ et 2,555 mg de H₂O (OAB)

3,237 mg de subst. ont donné 7,80 mg de CO₂ et 2,46 mg de H₂O (S. W.)

3,896 mg de subst. ont consommé 2,205 cm³ Na₂S₂O₃ 0,02-n. (*Zeisel-Vieböck*) (OAB)

3,337 mg de subst. ont consommé 1,935 cm³ Na₂S₂O₃ 0,02-n. (*Zeisel-Vieböck*) (S. W.)

C₃₀H₄₆O₉ Calculé C 65,43 H 8,42 —OCH₃ 5,64%

(550,67) Trouvé „, 65,62; 65,75 „, 8,68; 8,50 „, 5,86; 5,99%

Réaction de *Legal*: positive (orange), réaction de *Keller-Kiliani*: négative. Les réactions colorées avec H₂SO₄ 80%³) sont indiquées dans le tableau suivant où figurent également, à titre de comparaison, celles que nous avons observées sur la sarmentogénine.

¹) Nous remercions bien vivement M. W. A. Jacobs d'avoir mis à notre disposition un échantillon de son produit original.

²) *J. v. Euw & T. Reichstein*, Helv. **33**, 1551 (1950).

³) 0,5 mg de substance sont mélangé à 2 gouttes d'acide sulfurique 80% dans un godet de porcelaine et laissés reposer à découvert et sans agitation. Observation des couleurs à la lumière du jour.

Temps	Nº 799	Sarmentogénine
0 minutes	jaune	jaune
7 minutes	jaune	jaune avec un cercle bleu
11 minutes	jaune avec une bordure verdâtre	jaune avec une large bordure bleue
16 minutes	bleu verdâtre avec mince bordure bleue	bleu-vert
25 minutes	vert-bleu	bleu-vert
35 minutes	bleu-clair	bleu-vert
45 minutes	bleu-clair	vert
50 minutes	bleu-clair	vert-clair
60 minutes	bleu-clair	vert-clair
120 minutes	vert-clair	jaune-vert

Les colorations ne sont donc pas identiques, toutefois les différences sont minimes et ne sont visibles que si les observations sont faites simultanément. Le spectre d'absorption dans l'ultra-violet d'une solution alcoolique de la substance Nº 799 (voir courbe dans la partie théorique) possède un maximum à $217 \text{ m}\mu$ avec $\log \epsilon = 4,22$ (calculé pour $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_9$).

Acétate. 80 mg de la substance Nº 799, F. 225—228°, furent dissous dans 0,8 cm³ de pyridine absolue et 0,5 cm³ d'anhydride acétique, abandonnés à l'abri de l'humidité 15 heures à 18°, puis chauffés 1 heure à 40—45°. On obtint par purification usuelle 115 mg d'un produit incolore qui dissous dans le mélange méthanol-éther à 0° donna 48 mg de cristaux sous forme de bâtonnets, F. 282—285°; $[\alpha]_D^{18} = +7,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,171$).

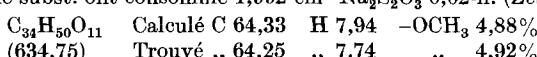
11,826 mg de subst. dans le méthanol, vol. total = 1,0094 cm³;

$$l = 1 \text{ dm}; \alpha_D^{18} = +0,09^\circ \pm 0,02^\circ$$

Séchage pour l'analyse pendant 3 h. La perte de poids n'a pas pu être déterminée.

3,684 mg de subst. ont donné 8,674 mg de CO_2 et 2,550 mg de H_2O (OAB)

4,190 mg de subst. ont consommé 1,992 cm³ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,02-n. (Zeisel-Vieböck) (OAB)



Par purification chromatographique des eaux-mères, nous avons encore obtenu 19 mg de cristaux (élusés par le mélange benzène-chloroforme). Réactions colorées dues à H_2SO_4 à 84% : incolore (après une minute), incolore avec nuance jaune (après 2—10 minutes), vert-jaune pâle (après 20—60 minutes).

Cristallisat Nº 804.

Cristaux incolores en forme de bâtonnets obtenus par cristallisation dans le méthanol.

F. 227—229°; $[\alpha]_D^{22} = -34,8^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,9755$).

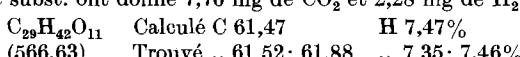
19,940 mg de subst. dans le dioxane à 95%, vol. total = 1,0094 cm³;

$$l = 1 \text{ dm}; \alpha_D^{22} = -0,69^\circ \pm 0,02^\circ$$

Séchage pour l'analyse pendant 5 heures.

3,926 mg de subst. ont donné 8,850 mg de CO_2 et 2,580 mg de H_2O (OAB)

3,422 mg de subst. ont donné 7,76 mg de CO_2 et 2,28 mg de H_2O (S. W.)



La substance ne contient pas de groupe méthoxyle (OAB). Réaction de *Legal*: positive (rouge), réaction de *Keller-Kilian*: négative. Les colorations dues à H_2SO_4 84% sont très semblables à celles observées pour le sarmentoside A (voir tableau).

Temps	Subst. N° 804 F. 227-229°	Fractions « Sarmentoside A » ¹⁾ F. 260-262°	« Sarmentoside A » ²⁾ brut, F. 235-255°
0 minutes	brun-jaune	brun foncé	brun-jaune
15 minutes	brun-jaune	brun avec nuance violette	lie de vin
30 minutes	brun-jaune pâle	brun-gris avec nuance violette	lie de vin
60 minutes	gris avec nuance jaune	gris	gris avec nuance bleue

Le produit N° 804 ne cristallise que très lentement dans l'acétone, mais les cristaux une fois formés, sont ensuite très peu solubles dans ce solvant.

Acétate. 80 mg de cristallisat N° 804 de F. 227-229° furent dissous dans 0,8 cm³ de pyridine et 0,5 cm³ d'anhydride acétique, puis abandonnés 1 jour à 20°. On obtint ainsi 111 mg d'un produit neutre, vitreux. Il fut chromatographié sur 3,5 g d'Al₂O₃ exempt d'alcali. Les premiers éluats (env. 21 mg) obtenus par le mélange benzène-chloroforme (1:1) étaient amorphes. Les fractions suivantes éluées par le mélange benzène-chloroforme (1:1) ainsi que par le chloroforme seul donnèrent 55 mg de résidu. Par cristallisation dans le mélange méthanol-éther on obtint 33 mg d'acétate. Le mélange chloroforme-méthanol éluva encore 30 mg d'un produit amorphe.

L'acétate cristallise dans le mélange méthanol-éther sous forme de fines aiguilles incolores. F. 165-167°; [α]_D¹⁸ = -46,4° ± 2° (c = 1,2474 dans le chloroforme).

12,510 mg de subst. dans le chloroforme, vol. total = 1,00293 cm³;

$$l = 1 \text{ dm}; [\alpha]_D^{18} = -0,58^\circ \pm 0,02^\circ$$

L'échantillon destiné à l'analyse fut séché 5 heures.

3,359 mg de subst. ont donné 6,77 mg de CO₂ et 1,85 mg de H₂O (*S. W.*)
C₃₅H₄₈O₁₄ (692,73) Calculé C 60,68 H 6,98% }
C₃₇H₅₀O₁₅ (734,77) Calculé „, 60,48 „, 6,86% } Trouvé C 60,10 H 6,74%

Cet acétate ne contenait pas de groupe méthoxyle.

Réaction colorée avec H₂SO₄ à 84%: jaune (après 1-10 min.), jaune avec nuance brune (après 20 min.), gris-brun (après 30 min.), gris-vert (après 60 min.), vert-clair (après 75 min.), bleu-vert pâle (après 120 min.). L'acétate de sarmentoside A³⁾, ainsi que son mélange avec notre acétate donnèrent le même F. Même concordance pour les pouvoirs rotatoires et les réactions colorées avec H₂SO₄ 84%.

Les micro-analyses ont été exécutées dans les laboratoires suivants: Mikrolabor der Organ.-chem. Anstalt, Bâle (direction: M. E. Thommen) (OAB), et chez Madame le Dr M. Sobotka et le Dr E. Wiesenberger, Graz (*S.W.*).

¹⁾ Préparé à partir de *Strophanthus sarmentosus P. DC.* du Togo No. 10, « *Wal-kowia* » du tableau Helv. **33**, 476 (1950), recristallisé 7 fois dans le méthanol, le mélange méthanol-éther et finalement dans le mélange dioxane-méthanol-éther. Son pouvoir rotatoire [α]_D²³ = -40,2° ± 2° (c = 1,4910 dans le dioxane à 95%) correspond bien à la valeur obtenue par Schmutz, Helv. **22**, 178 (1947). Il avait trouvé un produit fondant à 262,5-268° (décomposition), [α]_D¹⁸ = -40,5° ± 3° (dans le dioxane). Ces fractions donnent comme produit principal d'acétylation un acétate possédant un double point de fusion. F. 215-218° → 275-278°.

²⁾ Ce produit donne par acétylation plus de 20% d'acétate de sarmentoside A, F. 167-169°.

³⁾ J. Schmutz & T. Reichstein, Helv. **34**, (1951) à l'impression.

RÉSUMÉ.

Nous avons étudié les graines d'une variété locale de Strophanthus, dont l'identité botanique n'est pas encore établie définitivement et que nous désignerons provisoirement sous le nom de *Strophanthus spec. var. sarmentogenifera N° MPD 50*. Les extraits de ces graines ont donné sous l'effet de leurs ferment hydrosolubles, un mélange d'hétérosides dont nous avons pu isoler 3 substances avec les rendements suivants: 1^o 0,364 % de sarmentocymarine; 2^o 0,123 % d'une substance répondant à la formule C₃₀H₄₆O₉ et possédant un groupe méthoxyle; il s'agit probablement d'un nouvel hétéroside que nous appellerons provisoirement substance N° 799; 3^o 0,42 % de cristaux, désignés provisoirement comme cristallisat N° 804. Il s'agit d'un mélange composé en grande partie de sarmentoside A puisque par acétylation de ce cristallisat nous avons obtenu environ 30 % d'acétate de sarmentoside A. Nous n'avons pas trouvé de sarvéroside.

Cette variété de *Strophanthus* constitue pour le moment la meilleure source de sarmentocymarine de sorte qu'il serait désirable d'en entreprendre la culture après sélection appropriée. Les graines ayant fait l'objet de ces recherches n'étaient capables de germer que dans la proportion de 50 %. 30 % de ces graines n'étaient pas mûres. Les graines bien mûres auraient peut-être donné de meilleurs résultats encore.

Institut de pharmacie de l'Université, Bâle.

47. Über die tuberkulostatische Wirkung einiger Oxin-ähnlicher Verbindungen

von E. Sorkin und W. Roth.

(23. XII. 50.)

Einer Reihe von Beobachtungen ist zu entnehmen, dass Metallionen für die bakteriostatische Wirkung einiger Substanzen, die als Komplexbildner bekannt sind, von Bedeutung sind¹⁾²⁾.

Im Verlauf von Arbeiten, in denen wir versuchten, Einblicke in diese Zusammenhänge zu gewinnen, haben wir vor einiger Zeit ermitteln können, dass die Aktivität des stark tuberkulostatisch wirksamen 8-Oxychinolins durch Cu⁺⁺ erheblich verstärkt wird^{1).}

¹⁾ E. Sorkin, W. Roth & H. Erlenmeyer, Exper. 7, 64 (1951).

²⁾ G. A. Zentmyer, Science 100, 294 (1944); A. Albert, S. D. Rubbo, B. J. Goldacre & C. G. Balfour, Brit. J. exp. Pathol. 28, 69 (1947); A. Albert & D. Magrath, Biochem. J. 41, 534 (1947); A. Albert & W. S. Gledhill, Biochem. J. 41, 509 (1947); E. Carl & P. Marquardt, Z. Naturforschg. 4b, 280 (1949); K. Liebermeister, Z. Naturforschg. 5b, 79, 254 (1950); Dtsch. med. Wschr. 75, 621 (1950); E. Schraufstätter, Z. Naturforschg. 5b, 190 (1950); L. Heilmeyer, Klin. Wschr. 26, 649 (1948); F. S. H. Curd & F. L. Rose, Nature 158, 707 (1946); R. Pratt & J. Dufrenoy, J. Bact. 55, 75, 727 (1948); L. A. Binswanger, H. Erlenmeyer, E. Sorkin & E. Suter, Helv. 31, 1975 (1948); u.a.