

## 126. Etude polarographique de la salive

par D. Monnier et Z. Besso.

(20 V 53)

Lors de précédents travaux<sup>1)</sup>, nous avons montré qu'il est possible d'obtenir, en présence de cobalt(II), de chlorure d'ammonium et d'ammoniaque, des polarogrammes de la salive, présentant une certaine analogie avec ceux du sérum sanguin. La salive a été directement polarographiée après dilution, nous ne lui avons donc fait subir aucun traitement préalable. On observe sur ces courbes le saut de cobalt(II) et deux ou trois sauts dits catalytiques. Cette étude a été entreprise sur la salive de 4 individus et à diverses dilutions. Pour une même personne, les polarogrammes présentent des caractéristiques qui permettent, dans une certaine mesure, de reconnaître l'origine de la salive. Dans la figure 1 nous indiquons la signification des diverses lettres dont nous ferons usage au cours de cet article.

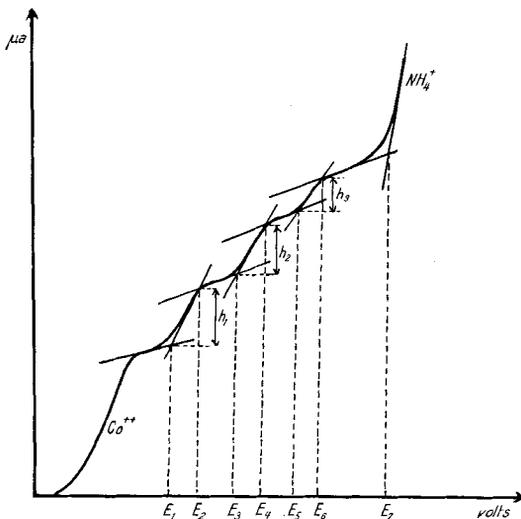


Fig. 1.

Nous allons tout d'abord résumer les travaux effectués sur la salive non dénaturée et reproduits, en partie déjà, dans les articles cités, mais nous ferons intervenir un troisième saut catalytique ( $h_3$ ). En effet, le sérum donne, dans les conditions de nos recherches, deux sauts catalytiques et nous supposons que la salive se comporterait de façon identique. A la suite d'une étude systématique des potentiels,

<sup>1)</sup> Helv. 34, 1842 (1951); Anal. chim. acta (sous presse).

nous sommes arrivés à admettre qu'en fait il existe un troisième saut, qui n'est pas toujours bien marqué et peut, dans certains cas, disparaître complètement. En tenant compte de ce dernier, on obtient des valeurs beaucoup plus constantes pour les divers potentiels de toutes les salives étudiées.

Dans le tableau I nous donnons les valeurs extrêmes obtenues pour les hauteurs des sauts  $h$  (exprimées en  $\mu a$ ) et pour les potentiels  $E$  (en volts). Ces derniers sont pris par rapport à la surface du mercure (anode). Le mode opératoire et l'appareillage ont été décrits dans les articles précédents (l. c.).

Pour la salive A, les dilutions sont comprises entre 20 et 50, pour les salives B et D, entre 20 et 40, et pour la salive C, entre 25 et 50.

Tableau I.

	Salive A	Salive B	Salive C	Salive D
$h_1$	0,8 à 3,2	1,3 à 4,6	1,4 à 3,4	1,5 à 5,2
$h_2$	1,0 à 2,8	0,7 à 1,7	0,9 à 2,2	1,4 à 2,4
$h_3$	2 à 7,8	1,0 à 2,5	1,9 à 2,5	1,4 à 3,2
$h_1/h_2$	0,5 à 2,5	1,3 à 4,0	1,4 à 3,5	1,1 à 2,4
$h_2/h_3$	0,3 à 0,6	0,8 à 1,4	0,5 à 0,7	0,6 à 1,0
$h_1/h_3$	0,3 à 1,4	0,7 à 3,0	0,7 à 1,8	0,9 à 2,6
$E_1$	1,22 à 1,27	1,20 à 1,25	1,20 à 1,28	1,19 à 1,22
$E_2$	1,30 à 1,33	1,30 à 1,35	1,31 à 1,34	1,26 à 1,29
$E_3$	1,42 à 1,44	1,40 à 1,45	1,41 à 1,44	1,40 à 1,43
$E_4$	1,50 à 1,54	1,52 à 1,55	1,52 à 1,54	1,47 à 1,51
$E_5$	1,60 à 1,66	1,64 à 1,66	1,63 à 1,64	1,61 à 1,63
$E_6$	1,78 à 1,81	1,77 à 1,86	1,77 à 1,78	1,74 à 1,77
$E_7$	1,85 à 1,87	1,84 à 1,85	1,84 à 1,88	—
$E_{\frac{1}{2}}^1$	1,36 à 1,38	1,35 à 1,40	1,36 à 1,39	1,33 à 1,36
$E_{\frac{1}{2}}^2$	1,56 à 1,59	1,58 à 1,60	1,58 à 1,59	1,54 à 1,57
$E_{\frac{1}{2}}^3$	1,70 à 1,72	1,71 à 1,72	1,70 à 1,71	1,69 à 1,72

*Remarques.* Le 3e saut catalytique ( $h_3$ ) n'est pas toujours nettement détaché du second ( $h_2$ ). On observe un changement d'inclinaison de la courbe, sans qu'il y ait un coude brusque entre  $h_2$  et  $h_3$ . Dans ce cas, la mesure de la hauteur se fait à l'aide des potentiels de début et de fin du saut, et de  $E_{\frac{1}{2}}^2$  et  $E_{\frac{1}{2}}^3$  dont les valeurs ont été déterminées sur des polarogrammes présentant des sauts bien marqués. On observe, pour un même individu dont la salive a été prélevée en des jours différents, une importante variation de la hauteur des sauts. Dans le tableau I, nous avons reporté les valeurs extrêmes des diverses hauteurs, des potentiels et des rapports  $h_1/h_2$ ,  $h_2/h_3$  et  $h_1/h_3$ , résultant de l'examen d'un grand nombre de polarogrammes. On remarque que  $h_1/h_2$  et  $h_1/h_3$  subissent des variations importantes, ce qui n'est pas le cas pour  $h_2/h_3$ . Par contre, pour chaque salive considérée, les potentiels sont très stables, sur tous les échantillons examinés et pour toutes les dilutions, en dépit du fait que la mesure n'en est pas toujours aisée.

Après l'étude polarographique de diverses salives plus ou moins diluées, provenant d'individus sains, salives n'ayant pas subi de traite-

ment préalable, nous avons examiné l'effet de la dénaturation. Avant de donner les résultats, nous allons exposer brièvement les méthodes utilisées. Si l'on veut obtenir des valeurs sensiblement reproductibles, il est nécessaire d'établir, dans chaque cas, un mode opératoire rigoureux, car la moindre modification peut provoquer des perturbations telles que les résultats n'ont plus aucune signification.

1. *Dénaturation à l'acide sulfosalicylique.* Nous avons effectué quelques essais qui ne se sont pas montrés très satisfaisants. La concentration en acide sulfosalicylique ne doit pas dépasser 20 mg par cm<sup>3</sup> de salive, car, pour des valeurs plus grandes, les sauts subissent une forte diminution ou même disparaissent complètement. Le plus souvent les modifications sont peu marquées.

2. *Dénaturation par la chaleur.* La chaleur, dans les conditions où nous avons travaillé, n'altère pas profondément la salive, ce qui se traduit par des modifications peu importantes des courbes. Les diverses salives ne présentent pas la même stabilité à la chaleur, comme on le constate sur le tableau II. Les essais ont été effectués à 80°, température qui nous paraît la plus adéquate.

**Tableau II.**  
Salive diluée 25 fois, dénaturée par chauffe à 80°.

Salive	Traitement	$h_1$	$h_2$	$h_3$	$h_1/h_2$	$h_2/h_3$	$h_1/h_3$
A	non dénaturée	3,2	1,9	3,2	1,7	0,6	1,0
	90' à 80°	2,1	2,2	3,2	0,9	0,7	0,7
	120' à 80°	1,8	2,0	2,7	0,9	0,7	0,7
	non dénaturée	2,1	1,4	2,0	1,5	0,7	1,1
	60' à 80°	2,0	2,2	2,1	0,9	1,1	0,9
	120' à 80°	1,6	1,5	1,7	1,1	0,9	0,9
	non dénaturée	3,2	1,6	2,9	2,0	0,6	1,1
	60' à 80°	1,6	1,9	3,7	0,9	0,5	0,4
	80' à 80°	1,6	2,0	4,3	0,8	0,5	0,4
B	non dénaturée	2,4	0,5	0	4,8	∞	∞
	30' à 80°	2,1	0,9	0	2,3	∞	∞
	60' à 80°	2,1	1,3	0	1,6	∞	∞
	90' à 80°	2,4	1,5	0	1,6	∞	∞
	non dénaturée	4,4	2,0	1,5	2,2	1,3	2,9
	90' à 80°	4,8	2,8	1,7	1,7	1,6	2,8
C	non dénaturée	3,5	1,0	1,2	3,5	0,8	2,9
	30' à 80°	3,1	1,4	1,5	2,2	0,9	2,1
	60' à 80°	2,8	1,6	1,7	1,8	1,1	1,6
	non dénaturée	3,3	0,8	1,2	4,1	0,7	2,8
	30' à 80°	2,5	1,7	1,7	1,5	1,0	1,5
	60' à 80°	2,4	1,2	1,3	2,0	0,9	1,8

Mode opératoire: 1 cm<sup>3</sup> de salive fraîche est introduit dans un ballon jaugé de 25 cm<sup>3</sup>. Après avoir bouché, on l'introduit dans une étuve portée à 80°, pendant un temps qui

peut varier de 20 à 120 min. Les temps compris entre 60 et 80 min. sont les plus favorables. On refroidit, on dilue avec la solution de cobalt tamponnée (5 cm<sup>3</sup> CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O 0,008-m. + 2,5 cm<sup>3</sup> NH<sub>4</sub>Cl m. + 2,5 cm<sup>3</sup> NH<sub>4</sub>OH m.). On complète au trait de jauge et on polarographie immédiatement, car la salive, après avoir été chauffée, évolue rapidement en milieu alcalin.

3. *Dénaturation à la potasse caustique.* Ce procédé est plus efficace que les précédents. Il produit une profonde modification de l'allure des courbes. La concentration de l'hydroxyde de potassium ne doit pas dépasser la normalité et il faut opérer avec minutie, car les solutions alcalines évoluent rapidement.

**Tableau III.**

Salive diluée 25 fois, dénaturée à l'hydroxyde de potassium, à 20°.

	h <sub>1</sub>	h <sub>2</sub>	h <sub>3</sub>	h <sub>1</sub> /h <sub>2</sub>	h <sub>2</sub> /h <sub>3</sub>	h <sub>1</sub> /h <sub>3</sub>	E <sub>5</sub>
<i>Salive A</i>							
non dénaturée	3,2	1,9	3,2	1,7	0,6	1,0	1,66
KOH 0,1-n. 40'	6,0	3,8	2,4	1,6	1,6	2,5	1,66
KOH 0,1-n. 60'	6,8	4,8	0	1,4			1,69
non dénaturée	2,1	1,4	2,0	1,5	0,7	1,1	1,64
KOH 0,1-n. 20'	4,4	5,8	0	0,8			1,72
KOH 0,1-n. 40'	4,0	6,0	0	0,7			1,70
KOH 0,1-n. 60'	1,4	5,4	0	0,3			1,70
non dénaturée	2,7	1,1	2,2	2,4	0,5	1,2	
KOH n. 20'	3,5	4,3	0	0,8			
non dénaturée	4,5	2,1	4,8	2,7		1,0	
KOH n. 60'	4,2	7,4	0	0,6			
non dénaturée	1,8	1,5	2,4	1,2	0,6	0,8	
KOH n. 20'	3,2	5,5	0	0,6			
<i>Salive B</i>							
non dénaturée	3,9	1,7	2,5	2,3	0,7	1,6	1,65
KOH n. 20'	9,5	5,4	0	1,8			1,68
non dénaturée	3,1	0,7	1,9	4,3	0,5	1,8	1,60
KOH n. 20'	4,4	4,2	0	1,1			1,65
<i>Salive C</i>							
non dénaturée	3,4	0,9	1,9	4,3	0,5	1,8	1,63
KOH n. 20'	4,6	5,0	0	0,9			1,75

Mode opératoire: on introduit dans un ballon jaugé de 25 cm<sup>3</sup>, 1 cm<sup>3</sup> de salive fraîche et 1 cm<sup>3</sup> de KOH n., on bouche et on laisse réagir un temps donné (généralement 20 min.) à 20°. Puis on ajoute successivement 2,5 cm<sup>3</sup> NH<sub>4</sub>Cl m., 5 cm<sup>3</sup> d'une solution de cobalt(II) (0,008-m.) et enfin 2,5 cm<sup>3</sup> NH<sub>4</sub>OH m. Après cette dernière adjonction, on complète à 25 cm<sup>3</sup> et polarographie immédiatement.

*Remarque.* Les modes opératoires décrits correspondent à des salives diluées 25 fois. Pour d'autres concentrations, on fait varier la prise initiale de salive.

Pour chaque série d'essais, nous donnons les valeurs correspondant à la salive non dénaturée. La dénaturation a été effectuée ensuite sur une partie aliquote de ce même

échantillon. Comme il a été relevé, les salives se comportent différemment à la dénaturation par la chaleur selon l'individu sur lequel elles ont été prélevées. C'est ainsi que  $h_1$  diminue beaucoup pour la salive A, qu'elle est sensiblement constante pour la salive B et qu'elle s'affaiblit quelque peu pour C. Quant à  $h_2$ , elle augmente dans tous les cas et  $h_3$  ne subit que de faibles variations. Le rapport  $h_1/h_2$  diminue pour tous les essais;  $h_2/h_3$  est à peu près constant et  $h_1/h_3$  s'affaiblit sauf dans un cas.

On observe une disparition totale du saut  $h_3$  (sauf dans un cas);  $h_1$  subit une augmentation très sensible, qui est encore plus marquée pour  $h_2$ ;  $h_1/h_2$  diminue, alors que les autres rapports deviennent infinis par la disparition du 3e saut catalytique.

### *Etude de la hauteur $h_1$ en fonction de la teneur en azote.*

Nous avons effectué le dosage de l'azote total (par microkjeldahl) et du soufre total de 6 salives préalablement débarrassées de la mucine par centrifugation.

	Non fumeurs			Fumeurs		
	salive I	salive II	salive III	salive IV	salive V	salive VI
N mg/l	430	354	392	450	530	595
S mg/l	56	59	58	76	150	105

Comme on peut le remarquer, la salive des fumeurs renferme plus de soufre que les autres; ceci est dû principalement à l'augmentation de la teneur en thiocyanate provoquée par la fumée. Une augmentation se fait aussi sentir sur l'azote total, mais dans une mesure plus faible.

D'autre part, nous remarquons qu'il existe une relation pour un même échantillon entre la concentration de la salive et la hauteur du saut  $h_1$  (et aussi dans une certaine mesure des sauts  $h_2$  et  $h_3$ ). En effet, si nous reportons sur les abscisses le log de la concentration de la salive et en ordonnées la hauteur du saut en  $\mu a$ , nous obtenons pour une même salive des points qui se situent au voisinage d'une droite. Nous avons fait ces observations sur un très grand nombre de salives et nous avons retrouvé cette relation sur la presque totalité des essais. Il s'agissait alors de chercher une relation entre l'azote total et la hauteur  $h_1$ .

Salive I					Salive II				
$h_1$	$\frac{h_1 - C}{(C = -3,1)}$	[N]	log [N]	A	$h_1$	$\frac{h_1 - C}{(C = -3,1)}$	[N]	log [N]	A
2,9	6	21,5	1,33	4,5	3,3	6,4	19,6	1,29	5
2,8	5,9	17,2	1,23	4,8	3,0	6,1	15,7	1,19	5,1
1,8	4,9	10,7	1,03	4,8	2,4	5,5	13,0	1,11	5
1,4	4,5	8,6	0,93	4,8	1,4	4,5	9,8	0,99	4,6
					1,3	4,4	7,9	0,89	5
0,6	3,7	5,4	0,73	5,1	1,1	4,2	6,6	0,81	5,2
					0,6	3,7	5,6	0,75	5
					0,3	3,4	4,9	0,69	4,9

La salive des fumeurs ne pouvait être prise en considération, car la quantité de thiocyanate est trop variable d'un individu à l'autre. Nous avons donc étudié plus particulièrement les salives I, II et III à diverses concentrations. Nous donnons ci-contre et ci-dessous pour chaque cas, la hauteur  $h_1$ , la concentration en azote total  $[N]$  en mg/l et le log de cette concentration.

Salive III				
$h_1$	$\frac{h_1 - C}{(C = -3,1)}$	$[N]$	$\log [N]$	A
2,8	5,9	17,7	1,25	4,7
2,5	5,6	14,2	1,15	4,9
1,6	4,7	8,85	0,95	5,0
1,1	4,2	7,08	0,85	4,9
0,8	3,9	5,90	0,77	5,1
0,4	3,5	5,05	0,70	5,0

Bien qu'il ne soit pas possible de tirer des conclusions définitives de ces quelques essais, il semble bien que la hauteur  $h_1$  est fonction de la concentration de l'azote total. En effet, si nous traçons le graphique de  $h_1$  en fonction de  $\log [N]$ , tous les points des salives I, II et III se trouvent placés dans le voisinage d'une même droite. Il est bien évident qu'une partie de l'azote total n'intervient pas dans ce phénomène catalytique. On sait, par exemple, que les thiocyanates inorganiques, présents en quantité appréciable dans la salive, ne donnent pas de saut, mais nous admettrons, en première approximation, que, dans le cas de salives normales de «non fumeurs», le rapport

$$\frac{\text{azote actif au polarographe}}{\text{azote total}}$$

est à peu près constant. On aurait une relation de la forme  $h_1 = A \lg [N] + C$  (voir tableau).

*Influence du sang sur le polarogramme de la salive.* Nous avons rencontré, parmi le très grand nombre de salives étudiées, quelques cas aberrants. Il est possible qu'ils soient dus à la présence de traces de sang. En effet, le sérum sanguin dilué 20 000 fois donne encore des sauts catalytiques mesurables. Par addition, à une salive normale, de quantités croissantes de sérum, on observe un effet perturbateur du sang sur le polarogramme de la salive pour des rapports

$$\frac{\text{salive}}{\text{sang}} \leq 1000.$$

En général, les hauteurs  $h_1$  et  $h_3$  sont augmentées; quant à  $h_2$ , elle diminue et, dans certains cas, disparaît. Il est donc très important d'éviter toute trace de sang dans l'étude polarographique de la salive.

Nous tenons à remercier ici M. P. Briess de l'aide qu'il nous a apportée au cours de ce travail.

## RÉSUMÉ.

L'étude du comportement de la salive à la polarographie est poursuivie. On constate la présence de 3 sauts catalytiques; les divers potentiels de ces sauts sont pratiquement constants pour les salives examinées. Puis on étudie le comportement de la salive à la dénaturation par la chaleur et par la potasse caustique. Une étude systématique de l'évolution des sauts a été faite, conduisant à un certain nombre de remarques; on signale, entre autres, la disparition complète du 3e saut lors de la dénaturation à la potasse caustique.

D'autre part, il existe, semble-t-il, une relation simple entre le premier saut catalytique  $h_1$  et la concentration en azote total  $[N]$  ( $h_1 = A \log[N] + C$ ).

Enfin, il est montré que la présence de traces de sang modifie profondément les polarogrammes de la salive.

Laboratoire de chimie minérale, de chimie analytique  
et de microchimie, Université de Genève.

## 127. Über Alkaloide aus *Rauwolfia semperflorens* Schlechter.

Mitteilung 5 über Rauwolfia-Alkaloide<sup>1)</sup>

von E. Schlittler und A. Furlenmeier<sup>2)</sup>.

(7. XII. 52.)

Da die Bearbeitung der Rauwolfia-Alkaloide seit längerer Zeit<sup>3)</sup> zu unserem Arbeitsgebiet gehört, haben wir uns bemüht, auch schwieriger zugängliche Rauwolfiaarten zu untersuchen. Durch die Freundlichkeit von Herrn Dr. M. G. Baumann, Zürich, sind wir in den Besitz von ungefähr 7 kg Rinde von *Rauwolfia semperflorens* gekommen. Das Material wurde im August 1950 in Neu-Kaledonien an den drei folgenden Lokalitäten gesammelt: Mt. Dore (Herbar. Baumann, Nr. 5594), mittlere Poueta-Kouré und mittlere Dumbea, 50—100 Meter über Meer.

Aus *Rauwolfia semperflorens* Schlechter haben wir zwei farblose Alkaloide isoliert, die mit keinem bisher bekannten Alkaloid identisch zu sein scheinen. Das von uns Semperflorin benannte Hauptalkaloid  $C_{21}H_{26}ON_2$ , Zersetzungspunkt 295<sup>0</sup>, gibt wie Ajmalin (aus *Rauwolfia serpentina*) die typische Rotfärbung mit Salpetersäure.

Die Verbrennungen der papierchromatographisch einheitlichen Base gaben keine brauchbaren Analysenresultate, erst die Analyse des Hydrochlorids ermöglichte die Aufstellung obiger Bruttoformel. Das

<sup>1)</sup> Mitt. 1: E. Schlittler & H. Schwarz, Helv. **33**, 1463 (1950); Mitt. 2: E. Schlittler, H. Schwarz & F. Bader, Helv. **35**, 271 (1952); Mitt. 3: F. Bader & H. Schwarz, Helv. **35**, 1594 (1952); Mitt. 4: J. M. Müller, E. Schlittler & H. J. Bein, Exper. **8**, 338 (1952).

<sup>2)</sup> Auszug aus der Diss. A. Furlenmeier, Basel 1953.

<sup>3)</sup> Vgl. auch D. Mukherji, R. Robinson & E. Schlittler, Exper. **5**, 215 (1949).