

ÉTUDE CHIMIO-TAXONOMIQUE DU GENRE HYPERICUM

I. RÉPARTITION DE L'HYPÉRICINE

C. MATHIS et G. OURISSON

Faculté de Pharmacie et Institut de Chimie, Strasbourg, France

(Reçu le 12 Décembre 1962)

Résumé—Nous avons mis au point une méthode spécifique de localisation de l'hypéricine par l'empreinte des organes végétaux sur papier chromatographique, applicable même sur des échantillons d'herbier anciens. Nous avons appliqué cette méthode en même temps que les procédés classiques à l'étude de la répartition de l'hypéricine dans plus de 200 espèces du genre *Hypericum*. Nous avons montré qu'à de rares exceptions près, les espèces à hypéricine appartiennent aux sections *Euhypericum* et *Campylosporus* de la classification de Keller.

Abstract—A method is described for the specific localization of hypericin in plant organs, by 'printing' on chromatographic paper. This method can be used both with fresh and old specimens (up to 120 yr at least). We have used it, in conjunction with more classical methods, to study the distribution of hypericin in some 200 species of *Hypericum*. Apart from a few scattered exceptions, practically all hypericin-containing species belong to the sections *Euhypericum* and *Campylosporus* of Keller's classification.

INTRODUCTION

LE GENRE *Hypericum* avec ses nombreuses espèces (au moins 300) est encore mal connu tant du point de vue botanique que chimique. Il constitue, avec le genre *Ascyrum* (comportant seulement 4 espèces), la famille des Hypéricacées. Il nous a paru intéressant d'éclaircir la classification du genre *Hypericum* par l'étude de sa composition chimique. Pour cette étude, nous avons choisi d'une part l'hypéricine, et d'autre part l'huile essentielle, qui nous semblent les constituants les plus caractéristiques du genre. L'hypéricine, qui fait l'objet de ce mémoire, est une matière colorante rouge, bien spécifique du genre *Hypericum*. L'huile essentielle est localisée dans l'appareil sécréteur caractéristique des Hypéricacées; sa composition chimique et sa répartition dans le genre *Hypericum* sont en cours d'étude et feront l'objet d'une publication prochaine.

TRAVAUX ANTERIEURS

Depuis fort longtemps, on sait que l'expression des fleurs du millepertuis donne un suc coloré en rouge. Des travaux relativement récents^{1,2} ont montré que l'hypéricine, responsable de la coloration rouge et apparemment non toxique, provoque la mort du bétail, si celui-ci est exposé au soleil après ingestion de millepertuis. Cette phototoxicité a été particulièrement étudiée pour l'hypéricine et quelques substances très voisines telles que la fagopyrine du sarrasin.

La constitution chimique de l'hypéricine a été déterminée par Brockmann et coll.³ Ces auteurs ont montré que, dans certaines espèces d'*Hypericum*, l'hypéricine est remplacée partiellement ou totalement par la pseudohypéricine de formule très voisine, difficile à distinguer de l'hypéricine.^{4,5} L'hypéricine est une substance chimiquement très stable; sa

¹ Z. MELAS-IOANNIDES, *Compt. rend. Soc. biol.* **105**, 349 (1930).

² J. I. QUIN, *Onderstepoort J. Vet. Sci. Animal Ind.* **1**, 491 (1933); C.A. **28**, 2790^a (1934).

³ H. BROCKMANN et H. MUXFELDT, *Naturwissenschaften* **40**, 411 (1953).

⁴ H. BROCKMANN et W. SANNE, *Naturwissenschaften* **40**, 461 (1953).

⁵ H. BROCKMANN et G. PAMPUS, *Naturwissenschaften* **41**, 86 (1954).

résistance à l'oxydation permet de la retrouver intacte dans des échantillons d'herbier très anciens; mais son inertie vis-à-vis de la plupart des réactifs rend difficile sa caractérisation directe dans les glandes sécrétrices.

Mise en évidence, dosage et extraction de l'hypéricine

La caractérisation de l'hypéricine peut se faire par deux moyens: spectre d'absorption et chromatographie sur papier. Dès 1939, Brockmann et coll. d'une part,⁶ Pace et MacKinney⁷ d'autre part, ont mesuré les λ max des bandes d'absorption de l'hypéricine. En 1943, Scheibe et Schöntag⁸ ont déterminé les coefficients d'extinction correspondant aux différentes bandes, ce qui permet une évaluation quantitative de l'hypéricine. Récemment, Kučera⁹ a utilisé la chromatographie sur papier en vue de la caractérisation de l'hypéricine.

Pour le dosage de l'hypéricine, les auteurs utilisent tantôt le spectrophotomètre,¹⁰⁻¹² tantôt le colorimètre.^{13,14} Ce dernier procédé, moins spécifique, nécessite l'élimination rigoureuse de toute substance gênante, en particulier l'hypérine, flavonoside non spécifique des *Hypericum*. Hagedorn et Neu¹⁵ ont mis au point une méthode de dosage photométrique sur des complexes colorés de l'hypéricine avec divers métaux.

L'extraction de l'hypéricine de la plante peut être réalisée suivant diverses techniques, très voisines entre elles. Ceci s'explique par la faible solubilité de l'hypéricine dans les solvants usuels. L'hypéricine de la plante peut être extraite par le méthanol ou la pyridine. Une fois cristallisée, elle est très peu soluble dans le méthanol, mais soluble dans le méthanol contenant un peu de pyridine. Brockmann émet l'hypothèse que, dans la plante, l'hypéricine est liée à des constituants basiques jouant le même rôle que la pyridine.¹⁰

Le principe de l'extraction est donc en général le suivant: élimination des substances de ballast (chlorophylle, autres pigments, graisses) par un solvant tel que l'éther qui ne touche pas l'hypéricine; puis action du méthanol qui donne une solution d'hypéricine presque pure, encore souillée d'un peu de chlorophylle et d'hypérine.

Certains auteurs¹⁶ préconisent la dissolution de l'hypéricine dans l'huile pour son dosage, mais la dissolution est beaucoup plus lente.

Répartition de l'Hypéricine dans la plante

Dans la plante, l'hypéricine est localisée dans des glandes, apparaissant sous forme de ponctuations ou de stries noires, visibles à l'oeil nu ou à la loupe. De nombreux botanistes signalent ces glandes noires, parfois même dans un but systématique. Suivant les espèces d'*Hypericum*, la répartition des glandes à hypéricine dans les différents organes de la plante est très variable; de nombreuses espèces ne renferment pas de glandes à hypéricine. Roth¹⁴ et Siersch¹⁷ ont recherché l'hypéricine dans les feuilles, les tiges, les sépales, les pétales et les étamines de 25 espèces environ.

Quoique la localisation de l'hypéricine dans les glandes noires soit bien démontrée, on

⁶ H. BROCKMANN, M. N. HASCHAD, K. MAIER et F. POHL, *Naturwissenschaften* **27**, 550 (1939).

⁷ N. PACE et G. MACKINNEY, *J. Am. Chem. Soc.* **61**, 3594 (1939) et **63**, 2570 (1941).

⁸ G. SCHEIBE et A. SCHÖNTAG, *Ber.* **75B**, 2019 (1943).

⁹ M. KUČERA, *Českoslav farm.* **7**, 381 (1958); *C.A.* **53**, 7507e (1959).

¹⁰ H. BROCKMANN, M. N. HASCHAD, K. MAIER et F. POHL, *Ann. Chem. Liebigs* **553**, 1 (1942).

¹¹ A. VAN DER KUY et R. HEGNAUER, *Pharm. Weekblad* **87**, 179 (1952).

¹² R. SALGUES, *Qualitas Plantarum et Materiae Vegetabilis* **8**, 38 (1961).

¹³ F. NEUWALD et U. HAGENSTRÖM, *Arch. Pharm.* **288**, 38 (1955).

¹⁴ L. ROTH, *Deut. Apotheker-Ztg.* **36**, 653 (1953).

¹⁵ P. HAGEDORN et R. NEU, *Arch. Pharm.* **287**, 70 (1954).

¹⁶ M. G. CHAPLINSKAYA, *Trudy L'vov Med. Inst.* **12**, 51 (1957); *C.A.* **52**, 2182d (1958).

¹⁷ E. SIERSCH, *Planta* **3**, 481 (1927).

ne peut exclure la présence dans le suc cellulaire d'une petite quantité d'hypéricine ou d'une substance très voisine, capable de se transformer en hypéricine au cours du dosage. En effet, Brockmann,¹⁰ par dosage spectrophotométrique, a montré la présence d'une petite quantité d'hypéricine dans les jeunes plants d'*H. hirsutum* L., sans fleurs ni fruits; or les feuilles et les tiges de cette espèce ne présentent pas de ponctuations noires. Dans certains cas, les méthodes de dosage de l'hypéricine et la localisation des glandes noires peuvent donc aboutir à des conclusions différentes. Peut-être peut-on expliquer ainsi certains résultats, en apparence contradictoires, relevés dans la littérature et signalés dans le Tableau 1.

Répartition de l'hypéricine dans le genre Hypericum

La recherche de l'hypéricine du genre *Hypericum* a déjà été faite par différents auteurs^{11,12,14,17-21} sur environ 70 espèces. Dans le tableau des résultats, on trouvera les références pour les espèces déjà étudiées. Seuls Brockmann et coll.^{5,18} ont différencié hypéricine et pseudohypéricine dans les espèces examinées, par une méthode de chromatographie circulaire. D'après les résultats obtenus par Brockmann sur 15 espèces, cette différenciation ne semble pas présenter un grand intérêt taxonomique. Par contre, Van der Kuy et Hegnauer,¹¹ travaillant sur 12 espèces d'*Hypericum*, avaient constaté que les 9 espèces renfermant de l'hypéricine faisaient partie de la section *Euhypericum* (cf. tableau 1), résultat que nous confirmerons nous-mêmes.

Nous avons essayé d'aborder l'étude chimio-taxonomique du genre *Hypericum*:

- (1) par la recherche de l'hypéricine dans les différentes espèces;
- (2) par l'étude de la répartition des glandes à hypéricine dans les organes de la plante.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Les méthodes que nous avons appliquées à la recherche de l'hypéricine varient suivant la nature de l'échantillon examiné: plante fraîche ou plante d'herbier. Nous n'avons effectué le dosage de l'hypéricine que sur les espèces disponibles à l'état frais ou récemment séchées par nous-même.

Méthodes de localisation non spécifiques de l'hypéricine

Sur la plante fraîche ou récemment séchée, nous avons observé les ponctuations noires par l'examen à la loupe binoculaire, soit direct, soit après immersion de la plante dans l'eau bouillante. Sur les échantillons d'herbier anciens, les glandes noirâtres sont difficiles à déceler sur le fond brun; dans ce cas, nous avons éclairci les parties de plantes examinées par un traitement à l'acide nitrique concentré, réactif qui n'attaque pas l'hypéricine dans les glandes durcies.

La technique utilisée est la suivante: on dispose les parties de plantes à examiner sur un verre de montre et on recouvre de quelques gouttes d'acide nitrique concentré. S'il s'agit de pétales, un traitement à froid est suffisant. S'il s'agit de sépales, de feuilles ou de tiges, on chauffe au bain-marie jusqu'à apparition de vapeurs nitreuses. On rince rapidement à l'eau et on examine à la loupe binoculaire. On observe alors les glandes noires sur fond jaune clair.

¹⁸ H. BROCKMANN et W. SANNE, *Chem. Ber.* **90**, 2480 (1957).

¹⁹ T. KARIYONE et N. KAWANO, *J. Pharm. Soc. Japan* **73**, 204 (1953).

²⁰ M. GRIMS, *Acta Pharm. Jugoslav.* **9**, 59 (1959).

²¹ Z. MELAS-IOANNIDES, *Arch. Inst. Pasteur Hellénique* **2**, 161 (1928).

TABLEAU 1. RÉPARTITION DE L'HYPÉRICINE DANS LE GENRE *Hypericum*

INDEX KEWENSIS: 0 = TOME ORIGINAL; SUP. 1 = PREMIER SUPPLÉMENT; ETC.

D'après l'Index kewensis, les noms d'espèces indiqués entre parenthèses dans le tableau 1 seraient équivalents à ceux qui les précèdent, mais vu certaines équivalences doutées, nous donnons séparément les résultats obtenus.

Organes de la plante: f = feuille, p = pétales; s = sépale, t = tige.

Origine échantillon: F = frais, HS = Herbier Strasbourg; HP = Herbier Paris.

Section	Sous-section	Nom de l'espèce	Index kewensis	Origine géographique	Résultats personnels	Origine échantillon	Résultats auteurs	Références
Triadenia		<i>H. aegypticum</i> L.	0	Egypte	—	HS	—	14
		<i>H. baumii</i> Eng. et Gilg.	Sup. 3	Afr. trop.	—	—	+	12
Adenotrias		<i>H. russegeri</i> Fenzl		Syrie	—	HS		
		<i>H. elodes</i> L.	0	Eur. occid.	—	HS	—	11, 14
Elodea		<i>H. breviflorum</i> Wall.	0	Himalaya	—	HP		
		<i>H. virginicum</i> L.	0	Amér. boréale	—	HS		
		(<i>H. tubulosum</i> Walt.)	0			HS		
Thasium		<i>H. thasium</i> Griseb.	0	Balkans	fps	HP		
		<i>H. calycinum</i> L.	0	Caucase	—	F	{ —	11, 14, 18, 20
Eremanthe		<i>H. cernuum</i> Roxb.	0	Himalaya	—	HP	+	12
		(<i>H. oblongifolium</i> Choisy)	0			HS		
		<i>H. aitchisonii</i> Drumm.		Asie Centrale	—	HP		
		<i>H. lanceolatum</i> Lam.	0	Afr. tropicale	fps	HS	+	12
Campylosporus		(<i>H. angustifolium</i> Lam.)	0		fps	HP		
		(<i>H. leucopeltoides</i> Steud.)	0		fps	HS		
		<i>H. schimperi</i> Hochst.	0	Ethiopie	fps	HS		
		<i>H. quadrangularum</i> Rich.	0	Ethiopie	fps	HS		
		(<i>H. rooperianum</i> Schimp.)	0		fps	HP		
Norysca		<i>H. chinense</i> L.	0	Chine	—	HS	—	14
		(<i>H. monogyrum</i> L.)	0		—	HS		
		(<i>H. salicifolium</i> Sieb. et Zucc.)	0		—	HP		
		<i>H. formosanum</i> Maxim.	0	Formose	—	HP		
		<i>H. paullum</i> Thunb.	0	Himalaya	—	F	—	
		<i>H. paullum</i> Henry	0	Horticole	—	F	—	
		<i>H. mysorense</i> Wight	0	Inde orient.	—	HS		
		<i>H. lysimachoides</i> Wall.	0	Himalaya	—	F		
		<i>H. gnidiaefolium</i> Rich.	0	Ethiopie	fps	HS		
		<i>H. cordifolium</i> Choisy	0	Himalaya	—	HP		
		<i>H. reptans</i> Hook. et Thoms.	0	Himalaya	—	HP		

Répartition de l'hypéricine

<i>H. tenuicaule</i> Hook. et Thoms.	0	Himalaya	—	HP	—	14
<i>H. hookerianum</i> Wight et Arn.	0	Himalaya	—	F	—	14
<i>(H. lechenaultii)</i> Choisy	0	Asie centrale	—	HS	—	18
<i>H. moserianum</i> André	Sup. 1	Asie boréale	—	F	—	18
(<i>H. patulum</i> × <i>calycinum</i>)		Horticole	—			
 Roscyna						
<i>H. ascyron</i> L.	0	Asie, Amér. bor.	—	F	—	14
<i>H. pyramidatum</i> Ait.	0	Amér. boréale	—	HS	—	14
<i>H. przewalskii</i> Maxim.	0	Asie centrale	—	HP	—	18
<i>H. gebleri</i> Ledeb.	0	Asie boréale	—	F	—	14
 Psorophytum						
<i>H. balearicum</i> L.	0	Baléares	—	HS	+(pl. fraîche)	12
 Androsaemum						
<i>H. androsaemum</i> L.	0	Asie Mineure	—	F	—	14, 18
<i>H. hircinum</i> L.	0	Méditerranée	—	F	—	11, 14
<i>H. inodorum</i> Willd.	0	Asie Mineure	—	F	+	18
<i>H. grandifolium</i> Choisy	0	Canaries	—	HS	—	
<i>H. foliosum</i> Ait.	0	Agiles	—	HS	—	
<i>H. elatum</i> Ait.	0	Amér. boréale	—	HS	—	
<i>H. concinnum</i> Benth.	0	Californie	fps	HP	—	14
 Humifusoideum						
<i>H. peplifolium</i> Rich.	0	Ethiopie	fps	HS	—	
 Webbia						
<i>H. canariense</i> L.	0	Canaries	—	F	—	14
<i>H. floribandum</i> Ait.	0	Canaries	—	F	—	18
<i>H. cambarosae</i> Coss.	0	Baléares	—	HP	—	
 Eulypericum						
<i>H. coris</i> L.	0	Eur. orient.	s	F	{ s	14
<i>H. empetrifolium</i> Willd.	0	Asie Mineure	s	HS	+	18
<i>H. ericoides</i> L.	0	Espagne	s	HS	—	
<i>H. roberti</i> Cossion	Sup. 1	Algérie	ps	HP	—	
 Olympia						
<i>H. olympicum</i> L.	0	Asie Mineure	fps	F	{ fps	14
<i>H. polyphyllum</i> Boiss. et Bal.	0	Asie Mineure	fps	F	+	18
<i>H. apollinis</i> Boiss. et Heldr.	0	Grèce	fps	HP	—	12, 14
 Triadenioidea						
<i>H. scopulorum</i> Balf.	0	Socotra	ps	HP	—	18
<i>H. cusini</i> Barbey	0	Eur. orient.	fps	HP	—	
<i>H. modestum</i> Boiss.	0	Clytie	fps	HP	—	
<i>H. serpyllifolium</i> Lam.	0	Syrie	ps	HS	—	
<i>H. cuneatum</i> Poir.	0	Asie Mineure	fps	HS	—	
<i>H. crenulatum</i> Boiss.	0	Asie Mineure	ps	HS	—	
<i>H. fragile</i> Heldr. et Sart.	0	Eur. orient.	fps	F	—	
<i>H. nummularium</i> L.	0	Pyrénées, Alpes	ps	PS	—	
 Arthropiphyllum						
<i>H. repens</i> Jaub. et Spach	0	Asie Mineure	—	HS	—	11
<i>H. cardophyllum</i> Boiss.	0	Syrie	—	HP	—	
<i>H. nanum</i> Poir.	0	Syrie	—	HS	—	

TABLEAU 1. RÉPARTITION DE L'HYPERICINE DANS LE GENRE *Hypericum*—suite

Section	Sous-section	Nom de l'espèce	Index kewensis	Origine géographique	Résultats personnels	Origine échantillon	Résultats auteurs	Références
Euhypericum	Crossophyllum	<i>H. orientale</i> L. (<i>H. jauberi</i> Spach)	0	Asie Mineure	—	F	—	14
		<i>H. adenorrhachum</i> Spach. (<i>H. myriotrichum</i> Boiss.)	0	Asie Mineure	fps	HS	—	—
			0	Asie Mineure	fps	HS	—	—
			0	Asie Mineure	fps	HS	—	—
Oligostema		<i>H. humifusum</i> L.	0	Eurasie	fps	F	{fps	14
							{+	11, 18
Homotaenum		<i>H. scabrum</i> L. <i>H. laeve</i> Boiss. et Hausskn.	0	Asie Mineure	ps	HS	—	—
		<i>H. thymopsis</i> Boiss.	0	Asie Mineure	ps	HP	—	—
		<i>H. simenisi</i> Freyn.	Sup. 1	Mésopotamie	ps	HP	—	—
		<i>H. confertum</i> Choisy	0	Asie Mineure	ps	F	—	—
		<i>H. hirtellum</i> Boiss.	0	Iran	ps	HP	—	—
		<i>H. neurocalycinum</i> Boiss.	0	Asie Mineure	ps	HS	—	—
		<i>H. asyrtacum</i> Boiss.	0	Mésopotamie	ps	HP	—	—
		<i>H. hirsutum</i> L.	0	Eurasie	ps	F	{ps	14
		<i>H. pruinatum</i> Boiss. et Bal.	Sup. 1	Asie Mineure	ps	HS	{+	11, 18
		<i>H. romeniiellum</i> Freyn.	0	Arménie	ps	HP	—	—
		<i>H. kotschyicum</i> Boiss.	0	Asie Mineure	ps	HP	—	—
		<i>(H. velutinum)</i> Boiss.	0	Eurasie	ps	HS	—	—
		<i>H. hyssopifolium</i> Vill.	0	—	ps	F	—	—
		<i>(H. lytium)</i> Boiss.	0	—	ps	HP	—	—
		<i>H. apricum</i> Kar. et Kir.	0	Turkestan	ps	HP	—	—
		<i>H. asperulum</i> Jaub. et Spach	0	Iran	fps	HP	—	—
		<i>H. repens</i> L.	0	Eur. orient.	fps	F	—	—
		<i>H. helianthoides</i> Boiss.	0	Asie Mineure	fps	HS	—	—
		<i>H. callanthium</i> Boiss.	0	Iran	ps	HP	—	—
		<i>H. leicheli</i> Staph.	Sup. 10	Iran	ps	HP	—	—
		<i>H. renellum</i> Janka	0	Eur. orient.	fps	HP	—	—
		<i>H. aucheri</i> Jaub. et Spach	0	Asie Mineure	fps	HP	—	—
		<i>H. olivieri</i> Spach	0	Mésopotamie	(f?) ps	HP	—	—
		<i>H. leptocladum</i> Boiss.	0	Arménie	ps	HS	—	—
		<i>H. armenum</i> Jaub. et Spach	0	Méditerranée	fps	HS	—	—
		<i>H. australis</i> Tenore	0	Afrique sept.	fps	HS	—	—
		<i>H. afrum</i> Lam.	0	Eur. occid.	fps	F	—	—
		<i>H. linearifolium</i> Vahl	0	Syrie	ps	HP	—	—
		<i>H. amatum</i> Boiss.	0	Mongolie	ps	HP	—	—
		<i>H. attenuatum</i> Choisy	0	Syrie	ps	HP	—	—
		<i>H. retusum</i> Auch.	0	Europe	fps	F	{fps	14
		<i>H. quadrangulum</i> L.	0	—	fps	F	{+	11
		<i>(H. maculatum</i> Crantz)	0	—	fps	F	{fps	14
		<i>(H. dubium</i> Leers)	0	—	fps	F	{+	18

Répartition de l'hypéricine

163

<i>H. desetangii</i> Lamotte	0	Europe	F	11
<i>H. tetrapetrum</i> Fries	0	Eurasie	F	14
(<i>H. acutum</i> Moench)	0		{ fpost	11
(<i>H. neapolitanum</i> Lam.)	0		{ +	14
(<i>H. undulatum</i> Schousb.)	0		{ fpost	18
(<i>H. boeticum</i> Boiss.)	0	Espagne	F	
(<i>H. decipiens</i> Wats.)	0		fpost	
<i>H. degenerii</i> Halacsy	0		fst	
<i>H. crispum</i> L.	0	Balkans	fst	14
<i>H. corymbosum</i> Mühl.	0	Méditerranée	fst	21
(<i>H. punctatum</i> Lam.)	0	Amér. boréale	fst	
(<i>H. maculatum</i> Walt.)	0		fst	
<i>H. aethiopicum</i> Thunb.	0	Afr. orient.	fst	
<i>H. corsicum</i> Steud.	0	Corse	fps	
<i>H. erectum</i> Thunb.	0	Japon	fps	
<i>H. morarensis</i> Keller	0	Kamtschatka	fps	
<i>H. kamtschaticum</i> Ledeb.	0	Amér. boréale	fps	
<i>H. secoueri</i> Hook.	0	Amér. boréale	fps	
<i>H. graveolens</i> Buckley	0	Mexique	fps	
<i>H. simulans</i> Rose	0	Europe	ps	14
<i>H. pulchrum</i> L.	0		{ ps	11, 18
<i>H. montanum</i> L.	0	Europe	{ fpost	14
<i>H. elegans</i> Steph.	0	Eurasie	{ +	11, 18
(<i>H. kohlii</i> um Sprengr.)	0		{ fpost	14
<i>H. venustum</i> Fenzl	0	Asie Mineure	ps	18
<i>H. monanthemum</i> Hook.	0	Himalaya	ps	
<i>H. elodeoides</i> Choisy	0	Himalaya	ps	
<i>H. hakonense</i> Fr. et Sav.	0	Japon	ps	
<i>H. formosum</i> Kunth.	0	Mexique	ps	
<i>H. reflexum</i> L.	0	Canaries	ps	
<i>H. napaulense</i> Choisy	0	Himalaya	ps	
<i>H. tomentosum</i> L.	0	Méditerranée	ps	
(<i>H. pubescens</i> Boiss.)	0		ps	
(<i>H. suberosum</i> Salzm.)	0		ps	
<i>H. intermedium</i> Steud	0	Ethiopie	ps	
<i>H. atomarium</i> Boiss.	0	Asie Mineure	ps	
<i>H. lanuginosum</i> Lam.	0	Grèce	ps	
<i>H. delphinium</i> Boiss. et Heldr.	0	Arabie	ps	
<i>H. sinicum</i> Hochst.	0	Asie Mineure	ps	
<i>H. arabicum</i> Steud.	0	Portugal	ps	
<i>H. scabrellum</i> Boiss.	0	Espagne	ps	
<i>H. lusitanicum</i> Poir.	0	Af. sept.	ps	
<i>H. caprifolium</i> Boiss.	0	Canaries	ps	
<i>H. naudinianum</i> Coss.	0		ps	
<i>H. coadunatum</i> Smith	0		ps	

TABLEAU I: RÉPARTITION DE L'HYPÉRICINE DANS LE GENRE *Hypericum*—suite

Répartition de l'hypéricine

TABLEAU 1. RÉPARTITION DE L'HYPÉRICINE DANS LE GENRE *Hypericum*—fin

Section	Sous-section	Nom de l'espèce	Index kewensis	Origine géographique	Résultats personnels	Origine échantillon	Résultats auteurs	Références
Brathys	Spachium	<i>H. denticulatum</i> Kunth	0	Mexique	-	HP	HP	
		<i>H. diffusum</i> Rose	Sup. 4	Mexique	-	HP	HP	
		<i>H. parviflorum</i> St. Hil.	0	Amér. australe	-	HP	HP	
		<i>H. caespitosum</i> Cham. et Schl.	0	Amér. australe	-	HP	HP	
		<i>H. chilense</i> Gay	0	Amér. australe	-	HS	HS	
		<i>H. brevistylum</i> Choisy	0	Amér. boreale	-	HP	HP	
		<i>H. divaricoides</i> Griseb.	0	Amér. centrale	-	HS	HS	
		<i>H. rheophilum</i> Kunth	0	Mexique	-	HS	HS	
		(<i>H. uliginosum</i> Kunth)	0	-	-	HS	HS	
		<i>H. alunkandii</i> Torr.	0	Amér. boreale	-	HS	HS	
		<i>H. pratense</i> Cham. et Schl.	0	Mexique	-	HP	HP	
		<i>H. fastigiatum</i> Kunth	0	Mexique	-	HS	HS	
		<i>H. graminineum</i> Forst.	0	Australie	-	HP	HP	
		<i>H. canadense</i> L.	0	Amér. boreale	-	HS	HS	
		<i>H. paniculatum</i> Kunth	0	Mexique	-	HP	HP	
		<i>H. tenuifolium</i> St. Hil.	0	Brésil	-	HP	HP	
		<i>H. linoides</i> St. Hil.	0	Brésil	-	HP	HP	
		<i>H. campestre</i> Cham. et Schl.	0	Brésil	-	HP	HP	
		<i>H. laxiusculum</i> St. Hil.	0	Brésil	-	HP	HP	
		<i>H. boreale</i> Bicka.	Sup. 1	Amér. boreale	-	HS	HS	
		<i>H. gymmanthrum</i> Engelm.	0	Amér. boreale	-	HP	HP	
Especes à classement incertain								
		<i>H. afromalacareum</i> Lebrun	Sup. 11	Congo belge	-	HP	HP	
		<i>H. annulatum</i> Moris	0	Sardaigne	fps	HP	HP	
		<i>H. asahiniae</i> Makino	Sup. 8	Japon	fps	HS	HS	19
		<i>H. fujisanense</i> Makino	Sup. 5	Japon	fps	HS	HS	19
		<i>H. glandulosum</i> Ait.	0	Japon	fps	HS	HS	19
		<i>H. gracilinum</i> Koidz.	Sup. 8	Japon	fps	HS	HS	19
		<i>H. hachijoense</i> Nakai	Sup. 7	Japon	fps	HS	HS	19
		<i>H. kanae</i> Koidz.	Sup. 9	Japon	fps	HS	HS	19
		<i>H. kibonense</i> Oliver	Sup. 1	Afr. orient.	fps	HP	HP	19
		<i>H. kinoshitanum</i> Koidz.	Sup. 8	Japon	fps	HP	HP	19
		<i>H. nervosum</i> Choisy	0	Java	-	HP	HP	19
		<i>H. nikkoense</i> Makino	Sup. 3	Japon	fps	HS	HS	19
		<i>H. ovalifolium</i> Koidz.	Sup. 6	Japon	fps	HS	HS	19
		<i>H. penthorodes</i> Koidz.	Sup. 8	Japon	fps	HS	HS	19
		<i>H. randiae</i> Hayata	Sup. 5	Formose	fps	HS	HS	19
		<i>H. samanense</i> Miyabe	Sup. 10	Japon	fps	HS	HS	19
		<i>H. senanense</i> Maxim.	Sup. 1	Japon	fps	HS	HS	19
		<i>H. shikokumontanum</i> Makino	Sup. 2	Japon	fps	HS	HS	19
		<i>H. takemitarium</i>	Sup. 10	Japon	fps	HP	HP	19
		<i>H. umbrosum</i> Kimura	Sup. 8	Japon	fps	HP	HP	19
		<i>H. vulcanicum</i> Koidz.	Sup. 1	Chine	fps	HP	HP	19
		<i>H. yunnanense</i> Franch.						

Méthode de localisation spécifique de l'hypéricine

Pour montrer que les ponctuations noires sont bien dues à l'hypéricine (ou à la pseudo-hypéricine), nous avons mis au point une méthode d'empreinte permettant simultanément la localisation du pigment et sa caractérisation analytique. Cette méthode est applicable à des échantillons d'herbier même très anciens; plusieurs espèces étudiées datent de 1845.

Cette technique est la suivante: on dispose les organes de plantes à examiner sur un verre de montre et on les recouvre d'une solution de potasse alcoolique (90 ml alcool à 95° + 10 ml KOH 10N); s'il s'agit d'un échantillon frais ou des pétales secs, on laisse en contact à froid; s'il s'agit d'un échantillon d'herbier, on chauffe au bain-marie bouillant. Lorsque l'échantillon examiné a pris une teinte noirâtre uniforme, on lave à l'eau. On traite alors à froid par l'acide acétique glacial jusqu'à éclaircissement, puis on lave à l'eau et on sèche brièvement les échantillons entre deux feuilles de papier filtre. Si la chlorophylle n'est pas entièrement éliminée, il faut répéter le traitement à la potasse alcoolique et à l'acide acétique. On dispose alors l'échantillon examiné sur une feuille de papier-filtre épais (p. ex. papier chromatographique) et on applique au-dessus une deuxième feuille de papier-filtre imprégnée de méthanol. On passe rapidement sur cette seconde feuille un fer à repasser chaud: l'hypéricine se dissout dans le méthanol et passe sur le papier-filtre, sans diffuser trop largement. On obtient ainsi une empreinte de l'échantillon dont les figures 1, 2 et 3 montrent des exemples; les glandes à hypéricine donnent sur le papier des ponctuations rouges visibles directement, ou mieux par leur fluorescence rouge intense sous éclairage U.V. On peut compléter la caractérisation de l'hypéricine en traitant le papier par la potasse alcoolique: les ponctuations roses virent au vert; le virage de la teinte peut se suivre très facilement à la loupe binoculaire. Ce changement de teinte suivant le pH est déjà signalé par Siersch.¹⁷

On peut également modifier cette technique pour caractériser l'hypéricine par son R_F en chromatographie sur papier. Après traitement par la potasse alcoolique et l'acide acétique, on presse l'échantillon à froid entre feuilles de papier chromatographique, imprégnées de méthanol. En quelques minutes l'hypéricine diffuse sur le papier. En choisissant convenablement la forme de l'échantillon (fragment de feuille p. ex.), on peut obtenir une tache suffisamment peu étendue. On dispose parallèlement à la tache à analyser une goutte d'une solution d'hypéricine pure. On développe le chromatogramme par le solvant n-BuOH—AcOH—H₂O 4:1:5 et on observe les spots d'hypéricine soit directement soit par leur fluorescence rouge dans l'U.V. Dans le solvant préconisé par Kučera,⁹ l'hypéricine a un R_F voisin de 0,9.

DOSAGE DE L'HYPÉRICINE

Nous avons utilisé la méthode préconisée par Brockmann:¹⁰ on épouse la plante sèche pulvérisée, par l'éther, jusqu'à élimination aussi complète que possible de la chlorophylle et autres substances de ballast; après séchage, on traite au méthanol qui dissout l'hypéricine. On introduit 3-4 ml de solution méthanolique à examiner dans la cuve d'un spectrophotomètre (Beckman DK2, épaisseur $e = 1$ cm). Pour conclure à la présence d'hypéricine, on se base sur la présence de maxima d'absorption à 590, 548 et 508 m μ . La détermination quantitative de l'hypéricine se fait sur le maximum à 590 m μ en utilisant comme coefficient d'extinction $\varepsilon = 4,16 \times 10^4$.⁸

Les différentes méthodes indiquées n'ont pas toutes été utilisées sur toutes les espèces. Certains échantillons d'herbier précieux (notamment ceux du Muséum) n'ont évidemment pu être utilisés que pour l'observation visuelle. Cependant, chaque fois que cela a été

possible, plusieurs méthodes ont été utilisées. En aucun cas nous n'avons eu à constater de divergence, même entre échantillons de provenances différentes, une fois rectifiées les erreurs d'identification de certains échantillons.

RÉSULTATS

Aux 70 espèces déjà étudiées, nous avons ajouté environ 150 espèces nouvelles, examinées soit à l'état frais, soit sur l'Herbier Général de l'Institut de Botanique de Strasbourg, soit encore sur l'Herbier du Muséum d'Histoire Naturelle à Paris (Tableau 1). Sur les espèces nouvelles dont nous disposons à l'état frais, nous avons effectué le dosage de l'hypéricine (Tableau 2).

Dans le Tableau 1 les espèces sont disposées d'après la classification de Keller.^{22*} Cette classification répartit le genre *Hypericum* en 18 sections, d'importance très inégale. A côté du nom de l'espèce, figurent son origine géographique et éventuellement les références des travaux antérieurs. En dehors des espèces examinées par Roth¹⁴ et Siersch,¹⁷ les résultats concernant la répartition de l'hypéricine suivant les organes de la plante sont dûs à nos propres recherches. D'autre part, nous avons pu vérifier la plupart des résultats publiés par les différents auteurs, exception faite pour les espèces japonaises.

Le Tableau 1 nous permet de faire les constatations suivantes :

- (1) L'hypéricine se retrouve principalement dans la grande section *Euhypericum* et la section *Campylosporus*. A l'intérieur de ces deux sections, les espèces où nous n'avons pas trouvé d'hypéricine sont rares. L'hypéricine est présente également dans *H. rhodopeum* Friv., unique espèce de la section *Campylopus*.
- (2) Dans les autres sections, nous n'avons trouvé l'hypéricine que très rarement: *H. thasium* Griseb. (section *Thasium*), *H. gnidaefolium* Rich. (section *Norysca*), *H. concinnum* Benth. (section *Androsaemum*) et *H. peplidifolium* Rich. (section *Humifusoideum*).
- (3) En dehors de la section *Euhypericum*, les espèces à hypéricine présentent des ponctuations noires sur les feuilles et les fleurs, jamais sur les tiges.
- (4) A l'intérieur de la section *Euhypericum*, la répartition de l'hypéricine est variable: Absente dans la sous-section *Arthrophyllum* (3 espèces) et dans *H. orientale* L. (sous-section *Crossophyllum*).

Uniquement dans les cils glanduleux des sépales pour les principales espèces de la sous-section *Coridium*.

Dans les sépales et les pétales pour une partie importante des sous-sections *Triadenioidea* et *Homotaenium*.

Dans tous les organes aériens (feuilles, fleurs et tiges) pour une grande partie de la sous-section *Heterotaenium* (type *H. perforatum* L.) et quelques espèces de la sous-section *Homotaenium* (type *H. quadrangulum* L.).

Dans fleurs et feuilles pour toutes les autres espèces.

N.B.—La recherche de l'hypéricine sur plusieurs espèces du genre *Ascyrum* (*A. hypericoides* L., *A. stans* Michx.) s'est avérée négative.

* Nous n'avons pu utiliser les classifications plus récentes du genre *Hypericum*, proposées par Stefanoff²³ et par Robson;²⁴ le premier n'a étudié que les espèces d'Europe et d'Asie et la classification du second, non publiée, ne nous est connue que dans les grandes lignes.

²² A. ENGLER et K. PRANTL, *Die Natürlichen Pflanzenfamilien* 21, (Pariétales et Opuntiales), Engelmann, Leipzig, 2ème édition (1925).

²³ B. STEFANOFF, *Jahrb. Land. Forstwiss., Fak. Univ. Sofia* 10-11, (1932-1934).

²⁴ N. K. B. ROBSON, British Museum (Natural History), London (travaux non publiés).



H. atomarium Boiss.
FIG. 1.



H. barbatum Jacq.
FIG. 2.



H. hircinum L. (sans hypéricine)
FIG. 3.

Roth¹⁴ et Brockmann¹⁸ ont déjà dosé l'hypéricine dans les 4 espèces de la partie supérieure du Tableau 2. Ces auteurs avaient obtenu des teneurs en hypéricine bien plus élevées, puisqu'ils étudiaient les parties aériennes fleuries. En examinant à la loupe les espèces du Tableau 2, on constate que les espèces présentant la plus grande densité de ponctuations noires sont aussi celles qui ont la teneur en hypéricine la plus élevée.

TABLEAU 2. RÉSULTATS DU DOSAGE SPECTROPHOTOMÉTRIQUE DE L'HYPÉRICINE DANS LE GENRE *Hypericum* (DOSAGES EFFECTUÉS SUR LES TIGES FEUILLÉES, NON FLEURIES)

Nom de l'espèce	mg hypéricine/kg plante sèche	Nom de l'espèce	mg hypéricine/kg plante sèche
<i>H. perforatum</i> L.	984	<i>H. rhodopeum</i> Friv.	53
<i>H. tetrapterum</i> Fries	432	<i>H. olympicum</i> L.	37
<i>H. undulatum</i> Schousb.	264	<i>H. trichocaulon</i> Boiss.	80
<i>H. rumelicum</i> Boiss.	420	<i>H. repens</i> L.	163
<i>H. richeri</i> Vill.	280	<i>H. atomarium</i> Boiss.	213
<i>H. hyssopifolium</i> Vill.	268	<i>H. lanuginosum</i> L.	275

DISCUSSION

Le Tableau 1 met en évidence quelques divergences de vue entre plusieurs auteurs et nos propres conclusions. Une grande prudence s'impose en la matière:

- (1) D'abord parce qu'un certain nombre d'espèces d'*Hypericum* sont encore mal définies et que certaines synonymies données par l'Index kewensis sont pour le moins douteuses.
- (2) Ensuite parce que les échantillons d'herbier sont souvent difficiles à examiner; en outre, les pétales secs sont très fragiles et les glandes à hypéricine, presque toujours terminales, peuvent aisément disparaître accidentellement.

Quelques erreurs possibles de ce type n'enlèveraient rien aux conclusions systématiques d'ensemble que nous essayons de tirer.

L'étude des résultats nous permet d'affirmer que l'hypéricine est un constituant très général des espèces des sections *Euhypericum* et *Campylosporus*. La sous-section *Arthrophyllum* (section *Euhypericum*), sans hypéricine, semble cependant suffisamment proche des sous-sections voisines par ses caractères botaniques pour justifier sa position systématique.

Il nous reste à discuter les cas particuliers rencontrés dans l'étude de la répartition de l'hypéricine (Tableau 1). A notre avis, les espèces *H. thasium* Griseb. (section *Thasium*), *H. concinnum* Benth. (section *Androsaemum*) et *H. peplidifolium* Rich. (section *Humifusoideum*) sont morphologiquement assez proches de la section *Euhypericum* dont elles diffèrent surtout par le nombre de styles ou le nombre de faisceaux d'étamines; or on classe bien *H. kalmianum* L. à 5 styles dans la section *Myriandra* présentant 3 styles en général. De même, *H. rhodopeum* Friv., unique représentant de la section *Campylopus*, ne diffère de la section *Euhypericum* que par ses étamines indépendantes, non groupées en faisceaux; cette espèce nous paraît morphologiquement beaucoup plus proche de la section *Euhypericum* que des sections à étamines libres (*Myriandra*, *Brathydium* et *Brathys*). Enfin, *H. gnidiaeefolium* Rich. est le seul représentant africain de la section *Norysca* et aussi la seule espèce de cette section à renfermer de l'hypéricine; il nous semble possible de classer cette espèce dans la section africaine *Campylosporus*, section à hypéricine, mais botaniquement très voisine de la précédente (dans les deux sections, espèces buissonnantes à 5 styles et à 5 faisceaux d'étamines).

Les exceptions dans la répartition de l'hypéricine que signalent certains auteurs (Tableau 1) et qui ne peuvent s'expliquer par des considérations botaniques, nous semblent attribuables à des confusions dans la détermination, souvent difficile, des espèces. Quant aux espèces japonaises, étudiées par Kariyone et Kawano,¹⁹ nous connaissons seulement avec certitude la place de 7 espèces sur 23 espèces à hypéricine dans la classification de Keller. Le fait que ces 7 espèces se classent dans la section *Euhypericum* est bien en accord avec nos conclusions.

CONCLUSIONS

- (1) Par l'étude de la répartition de l'hypéricine, nous justifions l'existence des sections *Euhypericum* et *Campylosporus*. Pour ces deux sections, nous proposons le schéma suivant:

Présence d'hypéricine	$\left\{ \begin{array}{l} 5 \text{ styles; 5 faisceaux d'étamines; buissons} \dots \dots \dots \text{sect. } \textit{Campylosporus} \\ 3 \text{ styles; 3 faisceaux d'étamines; herbes ou demi-} \\ \text{buissons} \dots \dots \dots \dots \dots \text{sect. } \textit{Euhypericum} \end{array} \right.$
--------------------------	---

- (2) La répartition de l'hypéricine suivant les organes nous permet d'éclaircir la classification de la section *Euhypericum*. Elle justifie l'existence des sous-sections *Coridium*, *Arthrophyllum* et, dans une certaine mesure, des sous-sections *Olympia* et *Triadenioidea*. En tenant compte également des principaux caractères botaniques, on peut classer la section *Euhypericum* de la façon suivante:

Demi-buissons ou petits buissons à feuilles coriaces persistantes	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Feuilles verticillées, linéaires; } \\ \text{hypéricine dans les glandes ciliées des sépales} \\ \text{seulement} \dots \dots \dots \dots \dots \text{sous-sect. } \textit{Coridium} \\ \text{Feuilles} \left\{ \begin{array}{l} \text{hypéricine absente} \dots \dots \dots \text{sous-sect. } \textit{Arthrophyllum} \\ \text{opposées} \left\{ \begin{array}{l} \text{hypéricine présente dans les fleurs et parfois dans les} \\ \text{par deux} \text{ feuilles} \dots \dots \dots \text{sous-sect. } \textit{Olympia} \text{ et } \textit{Triadenioidea} \end{array} \right. \end{array} \right. \end{array} \right.$
--	---

Herbes à feuilles caduques sous-sect. *Homotaenium*, *Heterotaenium*, *Drosocarpium*, *Oligostema* et *Crossophyllum*

Pour les herbes à feuilles caduques, la répartition de l'hypéricine suivant les organes n'est nullement en relation avec les sous-sections de Keller, aux caractères botaniques assez mal définis. Elle ne permet pas, à elle seule, une classification complète des espèces à feuilles caduques, mais elle permet des rapprochements d'espèces et la constitution de quelques groupes ayant un certain nombre de caractères communs:

Herbes velues; sépales à cils glanduleux noirs	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Feuilles non embrassantes, linéaires en général; hypéricine seulement} \\ \text{dans les fleurs} \dots \dots \dots \text{H. } \textit{confertum} \text{ à H. } \textit{kotschyanum} \text{ (Tableau 1)} \\ \text{Feuilles embrassantes ou semi-embrassantes;} \\ \left\{ \begin{array}{l} \text{hypéricine dans fleurs et feuilles} \dots \dots \dots \text{H. } \textit{intermedium} \text{ à H. } \textit{caprifolium} \\ \text{hypéricine dans fleurs, feuilles et} \\ \text{tiges} \dots \dots \dots \text{H. } \textit{organifolium} \text{ à H. } \textit{byzantinum} \end{array} \right. \end{array} \right.$
Herbes glabres; sépales avec ou sans cils glandu- leux noirs	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Hypéricine dans fleurs, feuilles et tiges:} \\ \text{H. } \textit{attenuatum} \text{ à H. } \textit{aethiopicum} \text{ et H. } \textit{perforatum} \text{ à H. } \textit{leprosum} \\ \text{Hypéricine abondante en stries noires dans les fleurs; peu abondante} \\ \text{dans les feuilles en général} \dots \dots \dots \text{sous-sect. } \textit{Drosocarpium} \end{array} \right.$

En conclusion, il est donc indéniable qu'il existe certaines relations entre la répartition de l'hypéricine et la classification de Keller du genre *Hypericum*. On a vu que l'hypéricine est intéressante non seulement en tant que substance chimique spécifique du genre *Hypericum*, mais aussi par sa localisation dans des glandes anatomiquement bien différenciées.

Remerciements—Nos très vifs remerciements vont à Monsieur Maresquelle, Directeur de l'Institut de Botanique de Strasbourg et à Monsieur Kapp, Conservateur des Herbiers du même Institut, qui nous ont autorisés à effectuer quelques prélèvements sur l'Herbier Général.

Nous tenons également à remercier le Prof. H. Brockmann qui nous a remis un échantillon d'hypéricine, et MM. le Prof. R. Hegnauer et le Dr. N. K. B. Robson pour leurs commentaires intéressants.