

RECHERCHES CHIMIQUES
SUR LES
ALCALOÏDES DE L'« ERYTHROPHLEUM »

THÈSE

PRÉSENTÉE A L'ÉCOLE POLYTECHNIQUE FÉDÉRALE, ZURICH,
POUR L'OBTENTION
DU GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES TECHNIQUES

PAR

René TONDEUR
de Bruxelles (Belgique)

Rapporteur : M. le Prof. Dr L. RUZICKA.
Corapporteur : M. le Prof. Dr PL. A. PLATTNER.

BRUXELLES
IMPRIMERIE MARCEL HAYEZ
Rue de Louvain, 112
Dom. légal : r. de la Chancellerie, 4

1950

CURRICULUM VITÆ

Fils de FÉLIX-GEORGES TONDEUR, originaire de Hougaerde (Belgique), et de MARIE-HENRIETTE, née STOLS, je suis né à Daverdisse (Belgique) le 19 mars 1916.

J'ai obtenu mon certificat d'études secondaires en 1933, après avoir terminé mes études primaires et secondaires à Schaerbeek (Bruxelles). Entré à l'Université Libre de Bruxelles en octobre 1933, j'ai obtenu le diplôme de Licencié en Sciences, Section des Sciences Chimiques, en juillet 1937.

Après avoir rempli mes obligations militaires, j'ai été inscrit à l'École de Chimie de l'Université de Bruxelles jusqu'en septembre 1939. Parti pour l'Afrique en 1940, j'y ai notamment travaillé au service de l'Institut National pour l'Étude Agronomique du Congo Belge. Rentré en Europe en 1946, j'ai commencé en novembre de la même année les travaux qui font l'objet de cette thèse.

Janvier 1949.

*Je remercie Messieurs les Professeurs
L. RUZICKA et PL. A. PLATTNER
de toute l'aide qu'ils m'ont apportée
au cours de ce travail.*

Je remercie spécialement

Monsieur B. G. ENGEL

de ses conseils et directives.

*Que l'INSTITUT NATIONAL POUR L'ÉTUDE
AGRONOMIQUE DU CONGO BELGE trouve ici
l'expression de ma gratitude pour l'aide matérielle qui m'a
permis la réalisation de ce travail.*

*Je tiens à remercier également la Direction de l'Agriculture
du Gouvernement Général du Congo Belge, la Direction
Générale de l'I.N.É.A.C. en Afrique et la Division
Botanique du C.S.K. à Élisabethville, qui ont bien voulu
se charger de faire récolter et expédier à l'École Poly-
technique de Zurich des quantités importantes d'écorces
d'Erythrophleum.*

TABLE DES MATIÈRES

	Pages.
INTRODUCTION	3
Isolement des alcaloïdes	6
Etude des alcaloïdes « A » et « B »	13
Examen d'écorces diverses	16
Essais de préparation d'acide cassénique	17
Résumé	22
<i>Partie expérimentale.</i>	
Extraction des bases	23
Fractionnement des bases	24
Tableau de rendement des fractions	27
Examen des diverses fractions	28
Alcaloïde « C »	30
Tableau de rendement en bases cristallisées	38
Alcaloïde « A »	39
Alcaloïde « B »	42
Examen de diverses écorces	46
Essais de préparation de l'acide cassénique	47
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE	52

RECHERCHES CHIMIQUES SUR LES ALCALOÏDES DE L'« ERYTHROPHLEUM »

INTRODUCTION

L'*Erythrophleum guineense* est connu depuis un siècle environ par les Européens (1). Les indigènes de l'Afrique équatoriale ont reconnu ses propriétés toxiques depuis des temps immémoriaux. C'est, en effet, cette essence qui fournit un des plus célèbres poisons d'« épreuve » utilisés par les sorciers noirs dans les jugements de Dieu. Cette coutume primitive subsiste encore actuellement, malgré l'introduction de la civilisation européenne, et des cas d'empoisonnement au « Kassa » ou « Tapa » sont encore fréquemment à déplorer.

Cependant, le Noir utilise cette essence à des buts moins criminels, notamment dans la confection de poisons de flèches et d'appâts pour la chasse, où son extrait intervient à côté d'extraits de certaines Strychnées, dans le tannage et la teinture des cuirs et, enfin, en médecine, où la poudre d'écorce, administrée en prise, sert de stimulant cardiaque.

Le bois de cette essence est très beau, résiste à la putréfaction et à l'attaque des insectes, mais est trop dur pour pouvoir être travaillé facilement.

Une deuxième espèce, l'*Erythrophleum Couminga*, originaire de l'île de Madagascar, est reconnue comme étant d'une toxicité supérieure à celle de l'*E. guineense*.

Plusieurs autres espèces d'*Erythrophleum* sont réparties dans les régions chaudes du globe; nous citerons notamment : *E. africanum*, *E. Micranthum*, toutes deux d'Afrique équatoriale, *E. Lasianthum* d'Afrique du Sud, *E. Laboucherii* d'Australie et *E. Fordii* d'Indochine. Toutes sont plus ou moins toxiques et contiennent des alcaloïdes en quantités et de constitution variables.

Ces alcaloïdes sont remarquables en ce qu'ils possèdent des propriétés physiologiques voisines de celles des glucosides de la digitale,

(1) Aux points de vue historique et botanique, voir l'étude de M. RIGAL (17).

en même temps qu'une action d'anesthésique local (2). Ce sont ces deux propriétés qui ont excité la curiosité des chimistes qui se sont attachés depuis de nombreuses années à l'étude de ces bases organiques. Ces propriétés physiologiques sont en effet relativement rares parmi les substances naturelles azotées.

L'espèce la plus étudiée est l'*Erythrophleum guineense*; quelques travaux importants ont cependant été réalisés au départ d'*E. Couminga* (21, 22, 27, 28). Entreprises vers 1875, les études chimiques se sont poursuivies de divers côtés jusqu'en 1939, année où elles furent spécialement poussées par l'Institut de Chimie Organique de l'E.P.F., qui les développe encore actuellement.

Beaucoup de ces premiers travaux ont malheureusement porté sur du matériel d'origine et d'identité botanique incertaines ou même complètement inconnues. Deux auteurs (3, 12, 13) ont utilisé comme matériel d'étude un produit commercial fabriqué par Merck à Darmstadt : le sulfate d'érythropléine.

Un aperçu de ces premiers travaux figure dans le tableau ci-dessous :

Auteurs :	Matériel de départ :	Produit isolé :
1875 GALLOIS et HARDY (11)	<i>E. guineense</i>	Érythropléine sol. eau.
1882 HARNACK et ZABROCKY (13)	Sulfate Merck	Érythropléine ester (?).
1896 HARNACK (12)	Idem	Idem $C_{28}H_{43}O_7N$ (?).
1912 POWER et SALWAY (16)	<i>E. guineense</i>	0,008 % amorphe.
1923 CYRIL et MAPLETHORPE (5)	Idem	0,1 % $C_{28}H_{43}O_7N$ (?).
1935 DALMA (6)	Idem	Cassaïne $C_{24}H_{39}O_4N$.
1939 RUZICKA et DALMA (19)	Idem	Cassaïne $C_{24}H_{41}O_4N$.
1940 BLOUNT, OPENSHAW, TODD (3)	Sulfate Merck	Érythropléine $C_{24}H_{39}O_5N$.
1941 RIGAL (17)	<i>E. guineense</i>	Divers alcaloïdes mal définis.

DALMA (6) fut le premier à isoler des alcaloïdes cristallisés des écorces d'*Erythrophleum* et à en donner des caractéristiques physiques précises.

L'étude de la constitution chimique de la molécule des bases de l'*Erythrophleum* a été réalisée pour la plus grande part par RUZICKA, DALMA et leurs collaborateurs. Le matériel de départ, l'écorce

(2) Pour plus de détails sur les études pharmacologiques de ces alcaloïdes, voir le travail très documenté de B. G. ENGEL (9).

d'*E. guineense*, est d'identité botanique certaine et d'origine déterminée (3). Le tableau suivant donne un aperçu de ces travaux récents :

	Auteurs :	Matériel de départ :	Produit isolé :
1939	FALTIS et HOLZINGER (10)	Cassaïne	Ac. cassainique, β -diméthylaminoéthanol.
1939	DALMA (7)	Cassaïne	Idem.
1939	RUZICKA et DALMA (19)	Ac. cassainique	1 double liaison en α , β de COOH, 1, 2, 8-triméthylphénanthrène.
1940	BLOUNT, OPENSHAW, TODD (3) .	Erythropléine Merck.	β - monométhylaminoéthanol double liaison en α , β de COOH, 1, 2, 8-triméthylphénanthrène.
1940	RUZICKA et DALMA (20)	Cassaïdine	β -diméthylaminoéthanol, acide cassaïdinique non saturé en α β de COOH.
1940	RUZICKA, DALMA et SCOTT (22).	Coumingine (<i>E. couminga</i>).	β -diméthylaminoéthanol, ac. couminginique, ac. cassainique.
1941	RUZICKA, DALMA, ENGEL et SCOTT (21).	Ac. couminginique .	Ac. β -oxyisovalérianique.
1941	RUZICKA, DALMA et SCOTT (22a).	Ac. cassanique	1, 2, 8-triméthylphénanthrène.
1945	RUZICKA, ENGEL, RONCO et BERSE (25).	Ac. cassanique	Carbinol, 1, 2, 8-triméthylisopropylphénanthrène (?).

Ces travaux, partiellement interrompus pendant la durée de la guerre, étant donnée l'impossibilité de se procurer du matériel de départ, ont été repris sur de nouveaux lots d'écorces en 1946 et se poursuivent actuellement.

Les trois alcaloïdes cristallisés isolés, cassaïne, cassaïdine et coumingine, possèdent plusieurs propriétés chimiques en commun :

a) Tous trois sont des esters du β -diméthylaminoéthanol. Le fragment acide de la molécule diffère par la nature des substituants et appartient vraisemblablement au groupe des diterpènes (19).

b) Ils possèdent tous une double liaison située en α , β du groupement carboxyle.

(3) Ces écorces ont été fournies à l'époque par le Service de l'Agriculture du Gouvernement général du Congo belge.

c) Ils peuvent être tous trois rattachés à un même acide de base, l'acide cassénique, qui n'a pas été isolé, mais dont le dérivé saturé, l'acide cassanique, a été préparé par RUZICKA, DALMA et SCOTT (22 a) et par RONCO (18).

Le présent travail visait plusieurs buts :

1. L'isolement de bases nouvelles de l'écorce d'*Erythrophleum guineense*.
2. L'étude de ces nouveaux alcaloïdes et éventuellement de leur rapport avec les bases déjà isolées.
3. L'examen sommaire d'écorces d'*Erythrophleum* de plusieurs provenances.
4. La préparation de l'acide cassénique $C_{20}H_{32}O_2$, aux fins d'établir la position du groupement carboxyle, encore indéterminée (25, 1 a).

1. ISOLEMENT.

Les écorces traitées proviennent de Yangambi, province de Stanleyville, Congo belge (4). Elles se présentaient en fragments de 5 à 10 cm et d'environ 1 cm d'épaisseur. La poudre en était fortement sternutatoire, nécessitant l'emploi d'un masque à poussière pour ses manipulations.

Nous nous sommes d'abord attaché à préparer tous les alcaloïdes sous forme de sels stables. On avait précédemment remarqué que les bases isolées des eaux mères des alcaloïdes cristallisés, cassaine et cassaidine, se décomposent assez rapidement avec le temps. De même, RIGAL (17) fait observer que les écorces perdent la plus grande partie de leur activité après une longue conservation. Nous avons pu nous-même vérifier ce fait (cf. p. 27).

Pour l'extraction des écorces, nous avons utilisé la méthode de DALMA (7), par macération de la poudre dans l'éther, ce qui nous a permis d'isoler 0,28 % du poids de l'écorce en bases totales.

Nous avons d'abord essayé la préparation du bisulfate de cassaine à partir du bisulfate des bases totales par recristallisation dans un mélange alcool 95 %/éther [cf. DALMA (7)]. Il ne nous a pas été possible d'isoler un produit cristallisé. D'autre part, le bisulfate brut repris par l'acétone chaud se dissout, puis laisse cristalliser ce que nous avons appelé « Fraction I ». Par la suite, nous basant sur ce

(4) Des écorces examinées (voir 3), les plus riches en bases provenaient de cette origine; c'est ce qui a fixé notre choix.

fait, les opérations ont été simplifiées en ce sens que la « Fraction I » a été préparée directement à partir des bases totales par précipitation du bisulfate en solution acétonique.

Le mélange des bases de cette « Fraction I » constitue environ 9 % des bases totales et contient la totalité de la cassaine et une partie de la cassaidine isolées par la suite.

Après avoir éliminé de cette façon la cassaine déjà connue, il s'agissait de transformer les alcaloïdes secondaires en sels stables, en même temps que s'effectuait un certain fractionnement.

Après évaporation des eaux mères de la « Fraction I » et élimination des substances acides et neutres, les bases ont été extraites à l'éther. Nous avons alors essayé à plusieurs reprises la préparation d'un oxalate insoluble dans l'acétone. Ces tentatives ont échoué, le produit obtenu formant un gel compact qui ne pouvait être filtré. En dissolvant ce produit dans le minimum de méthanol chaud et en laissant refroidir, on obtient un précipité à peine gélatineux facilement filtrable. Le méthanol et l'acétone se trouvent dans le solvant dans la proportion de 2 : 1. Le précipité obtenu a été dénommé « Fraction II *a*, oxalates ».

Nous avons, par la suite, précipité les bases sous forme d'oxalates dans des mélanges de méthanol/acétone contenant des quantités croissantes d'acétone.

L'oxalate ou, plus exactement, le mélange d'oxalates II *a* a un point de fusion voisin de 160° et dévie le plan de la lumière polarisée d'environ —57°. Les bases de cette fraction constituent environ 12 % des bases totales.

Les bases obtenues des eaux mères de la « Fraction II *a* » ont été traitées par l'acide oxalique dans un mélange méthanol/acétone 1 : 2. La « Fraction II *b* » ainsi obtenue est semblable par son aspect à la précédente et est formée d'un mélange d'oxalates fondant à 158° et dont le pouvoir rotatoire s'élève à environ —60°. Les bases de cette fraction constituent environ 8 % des bases totales.

Opérant de même sur les eaux mères de la « Fraction II *b* », on a isolé dans un mélange méthanol/acétone 1 : 8 une troisième fraction d'oxalates : la « Fraction II *c* ». Le point de fusion de cette fraction (128-130°) est nettement inférieur au point de fusion des deux autres et son pouvoir rotatoire légèrement plus faible (—52°). Les bases de cette fraction constituent environ 9 % des bases totales.

Une précipitation des oxalates dans l'acétone seul à partir des bases des eaux mères de la « Fraction II *c* » a donné le même gel que précédemment.

Abandonnant alors la préparation d'oxalates dans divers solvants, nous avons essayé la préparation d'autres sels.

Les eaux mères de la « Fraction II c » ont été évaporées à petit volume et reprises par l'eau. Les bases en ont été extraites et les alcaloïdes amorphes dissous dans l'acétone et traités par une solution étherée d'acide bromhydrique.

On a pu isoler de cette façon un bromhydrate d'aspect cristallin, la « Fraction III », fortement hygroscopique, qui, après dessiccation, fond à 180° environ et possède un pouvoir rotatoire d'environ —40°. Les bases de cette fraction constituent environ 13 % des bases totales.

Les bases, extraites des eaux mères de la « Fraction III », après avoir été débarrassées des impuretés acides ou neutres, ont été précipitées comme oxalates insolubles en solution acétonique. Le précipité d'oxalates est fortement gélatineux, mais peut néanmoins être filtré et lavé.

Il contient la presque totalité des bases et est fortement coloré. C'est pour cette dernière raison qu'il n'a pas été conservé comme tel, mais immédiatement transformé, en passant par les bases, en bisulfate précipitant du mélange acétone/éther.

Ce mélange de bisulfates ou « Fraction IV » possède un point de fusion situé entre 160° et 220° et un pouvoir rotatoire d'environ —54°. Ces bases représentent 5 % des bases totales.

Des eaux mères du bisulfate IV, contenant une forte proportion d'acétate d'éthyle de lavage, se sépare une « Fraction IV' », fondant entre 165 et 220° et déviant le plan de la lumière polarisée d'environ —62°. Les bases de cette fraction représentent environ 1 % des bases totales.

Les bases extraites des eaux mères de la « Fraction IV' », préalablement débarrassées des acides et des substances neutres, sont précipitées sous forme d'oxalates ou « Fraction V » dans une solution acétonique. Les bases de cette dernière fraction représentent 3 % des bases totales.

Au total, il a été possible de séparer sous forme stable environ 63 % des bases totales, 3 % environ sont restés sous forme de bases amorphes, ne donnant aucun sel cristallisé. Environ 34 % des bases sont perdus en cours de manipulations, vraisemblablement par hydrolyse acide ou alcaline.

Des fractions ainsi isolées, seules les fractions I et III ont un aspect nettement cristallin. C'est la raison pour laquelle nous nous sommes spécialement attaché à leur examen et principalement à celui de la « Fraction III », qui laissait prévoir la présence d'alcaloïdes nouveaux. Cette façon de procéder s'est avérée fautive par la suite, puisque cette fraction s'est montrée être un mélange complexe de plusieurs bases.

Par dissolution de la « Fraction I » dans le minimum de méthanol bouillant et après refroidissement, se sépare du bisulfate de cassaine pratiquement pur Fp 290°. Il constitue 54 % environ de la « Fraction I ». La cassaine base $C_{24}H_{39}O_4N$ ainsi que divers sels et son dérivé acétylé ont été préparés. La cassaine représente environ 5,25 % des bases totales (5).

A partir des bases isolées des eaux mères méthanoliques du bisulfate de cassaine, nous avons pu isoler un chlorhydrate cristallisé qui, après recristallisation, s'est avéré être du chlorhydrate de cassaïne : $C_{24}H_{41}O_4N.HCl$, F 251°, $[\alpha]_D = -94^\circ$. La cassaïne isolée de la « Fraction I » représente environ 3,5 % des bases de cette fraction et 0,3 % des bases totales (5).

Les autres bases de la « Fraction I », soit environ 40 % des bases de cette fraction, n'ont pas été étudiées.

De la « Fraction II a », les bases isolées et précipitées sous forme de chlorhydrates en solution étherée fournissent, par cristallisation dans l'acétate d'éthyle, un produit fondant à 214-217°, $[\alpha]_D = -48,5^\circ$. L'analyse centésimale permet de lui attribuer $C_{28}H_{45}O_5N.HCl$ comme formule brute possible. Cette base, que nous avons appelée provisoirement « alcaloïde C », constitue environ 6 % des bases totales. Il s'agit d'une base secondaire (réaction positive avec nitroprussiate de sodium/aldéhyde acétique), fort probablement d'une désoxy-coumingidine.

La constance des propriétés physiques au cours des dernières recristallisations permet de supposer qu'on se trouve en présence d'un corps pur. La possibilité d'avoir affaire à un sel de cassaine ou de cassaïne est éliminée par l'examen de la composition centésimale et des constantes physiques.

D'autre part, les bases de cette « Fraction II a » fournissent un bisulfate cristallisant dans un mélange acétone/éther. Le point de fusion de ce produit est de 114-115° et son pouvoir rotatoire de -57° . C'est de nouveau une base secondaire et l'analyse montre qu'on a affaire ici au bisulfate de la coumingidine de SCHLITZER (27) : $C_{28}H_{45}O_6N.H_2SO_4$.

Les autres bases de la « Fraction II a », soit environ 6 % des bases totales, n'ont pas été étudiées.

La « Fraction II b » n'a pas été examinée.

Par chromatographie des bases de la « Fraction II c » on a obtenu deux fractions cristallisées. De 500 mg de bases, l'éther de

(5) Des écorces traitées par DALMA, ce dernier isolait 0,9 % de bases totales, dont 10 % environ de cassaine et 1 % de cassaïne (7, 19).

pétrole/benzène 1 : 1 élue 30 mg de cristaux de F 84-88° et le benzène/éther 4 : 1 élue 25 mg de cristaux F 145-149°.

Ces deux bases ont été respectivement identifiées par détermination du point de fusion et du pouvoir rotatoire avec les alcaloïdes « B » et « A » isolés de la « Fraction III ».

D'autre part, les bases de cette fraction fournissent, dans certaines conditions, un bisulfate cristallisé F 251-254°, $[\alpha]_D = -74^\circ$ en très petite quantité. Ce sel a été obtenu en quantité trop faible pour pouvoir être préparé pour l'analyse. De ses eaux mères nous avons pu préparer une petite fraction de bromhydrate cristallisé F 181-182°, qui est probablement un mélange d'une composition semblable à celle du mélange de bromhydrates de la « Fraction III ».

Le bromhydrate de la « Fraction III » a été recristallisé plusieurs fois dans l'acétone. Le pouvoir rotatoire primitif de -40° diminue en valeur absolue, devient nul, puis positif au cours des recristallisations.

Après qu'il a atteint une valeur de $+6^\circ$, des recristallisations ne le modifient plus en dehors des limites d'erreur. De même, le point de fusion semble se stabiliser à 210-212° (ce point de fusion varie très fortement avec la vitesse de chauffe).

La quantité de produit recristallisé représente un peu moins de 10 % de la fraction primitive.

De nombreuses préparations de ce produit donnent à l'analyse des valeurs correspondant à une formule brute $C_{24}H_{37}O_5N.HBr$. Un chlorhydrate préparé à partir des bases du bromhydrate recristallisé fournit, à l'analyse, des chiffres appuyant cette formule.

Cependant, lors d'un essai de préparation de la base correspondante, on ne put isoler qu'une petite quantité de cristaux fondant à 148-150°. Toutes les tentatives de faire cristalliser les eaux mères échouèrent. Contre toute attente, nous nous trouvions donc en présence d'un mélange. Dans le but de le séparer, ce dernier fut chromatographié.

Cette opération permit de séparer des fractions de propriétés très distinctes. 1,1 g de bases chromatographiées fournirent :

a) 500 mg élués par un mélange éther de pétrole/benzène 1 : 2 amorphe, très soluble dans l'éther de pétrole, $[\alpha]_D = +5^\circ$.

b) 330 mg élués par un mélange benzène/éther 9 : 1, soluble dans l'éther de pétrole, amorphe, très soluble dans l'éther $[\alpha]_D$ variant de $+23$ à $+51^\circ$.

c) 180 mg élués par un mélange benzène/éther 4 : 1, cristaux, difficilement soluble dans l'éther, F 149-150°.

Les bases de la fraction *a*) fournissent un chlorhydrate, F 187-189°, $[\alpha]_D = +5^\circ$ environ. Dans les essais de préparation de divers sels à partir de ce chlorhydrate, il nous fut possible de préparer un perchlorate fort bien cristallisé en aiguilles prismatiques qui, après plusieurs recristallisations, montrait un pouvoir rotatoire de -23° . Un chlorhydrate préparé à partir des eaux mères de ce sel montrait, au contraire, une forte augmentation de pouvoir rotatoire ($+27^\circ$). L'obtention de ces deux sels, de pouvoir rotatoire différent, montre la complexité du mélange primitif des bromhydrates de la « Fraction III ». On se trouve en présence d'au moins trois bases différentes.

Un deuxième chromatogramme des bases de la « Fraction III » recristallisée fut développé plus complètement, permettant cette fois d'isoler, à partir de 2,31 g de bases :

a) 565 mg élués par un mélange éther de pétrole/benzène 2 : 1, amorphe, très soluble dans l'éther de pétrole, $[\alpha]_D = -17^\circ$;

b) 1.225 mg élués par un mélange éther de pétrole/benzène 1 : 1, amorphe, très soluble dans l'éther, $[\alpha]_D$ variant de $+10$ à $+63^\circ$;

c) 370 mg élués par la benzène, puis par un mélange benzène/éther 4 : 1, cristaux très difficilement solubles dans l'éther, F 147-149°.

Les fractions cristallisées *c*) des deux chromatogrammes sont homogènes; nous avons provisoirement nommé cette base : *alcaloïde « A »*. Cet alcaloïde représente, dans cette fraction, environ 0,2 % des bases totales. (Voir p. 13.)

Les fractions positives *b*) ont été réunies et transformées en chlorhydrate $[\alpha]_D = +19^\circ$.

La fraction *a*) du deuxième chromatogramme, augmentée des bases provenant du perchlorate, a été rechromatographiée. De 770 mg de bases, on a séparé 605 mg de bases cristallisées, éluées par un mélange éther de pétrole/benzène, puis benzène seul, F 86-87°, $[\alpha]_D = -56^\circ$. Nous avons provisoirement appelé cette base : *alcaloïde « B »*. Il est décrit plus en détail dans la deuxième partie de ce travail. Cette base constitue, dans la fraction envisagée, environ 0,4 % des bases totales. (Voir p. 15.)

Étant données les petites quantités de bases « A » et « B » isolées, nous avons examiné diverses fractions adjacentes avec l'espoir d'y trouver de nouvelles quantités de ces bases cristallisées. Il était logique de commencer par les eaux mères du bromhydrate recristallisé. Dans ce but, nous en avons chromatographié les bases. De 500 mg de bases nous avons pu isoler 115 mg de « B » élués par un mélange éther de pétrole/benzène et environ 150 mg de « A » élués

par le benzène et un mélange benzène/éther 1 : 1, soit environ 0,8 % des bases totales en « B » et environ 1 % en « A ».

La « Fraction II c » signalée précédemment en contient également de petites quantités. (Voir p. 10.)

Les bases de la « Fraction IV » (bisulfate) ont été chromatographiées. De 500 mg de bases, un mélange éther de pétrole/benzène 1 : 1 élue 40 mg de base « B », tandis que le mélange éther de pétrole/benzène 1 : 2, puis le benzène seul éluent 45 mg de base « A ». Enfin, avec l'acétate d'éthyle comme éluant, on obtient 50 mg d'une base cristallisée dont le chlorhydrate fond à 250-251°, $[\alpha]_D = -94^\circ$. Ce chlorhydrate a pu être identifié avec le chlorhydrate de cassaïdine par point de fusion du mélange. La quantité de bases cristallisées de cette fraction constitue : « A » 0,4 %, « B » 0,4 %, cassaïdine 0,5 % des bases totales ou respectivement 8, 9 et 10 % des bases de la « Fraction IV ».

De 500 mg de bases provenant des eaux mères de ce bisulfate, eaux mères qui correspondent à la « Fraction V », on a pu isoler par chromatographie 30 mg de base « B » élués par le mélange éther de pétrole/benzène 1 : 2 et 30 mg de base « A » élués par un mélange benzène/éther 10 : 1. Le rendement de ces bases dans la « Fraction V » est pour chacune d'entre elles de 6 %, soit environ 0,3 % des bases totales.

Des eaux mères finales du fractionnement, on n'isole par chromatographie aucune base cristallisée. A partir de 2,6 g de bases, le mélange éther de pétrole/benzène élue 120 mg de bases, soit environ 5 % de cette fraction et 0,15 % des bases totales, dont les chlorhydrates sont cristallisés $[\alpha]_D = +1^\circ$. Ce sel correspond vraisemblablement à un mélange, voisin de celui de la « Fraction III ». Les bases éluées par le mélange benzène/éther 5 : 1 pèsent 440 mg et fournissent un bisulfate partiellement cristallisé qui n'a pas été étudié. Elles constituent 17 % de la dernière fraction et environ 0,4 % des bases totales. Les autres fractions du chromatogramme ne donnent aucun sel cristallisé.

Le fractionnement des bases de l'*Erythrophleum* qui vient d'être décrit n'avait pas la prétention de séparer des fractions homogènes. Il avait été fait dans le but primitif de trouver un mode de conservation des alcaloïdes par transformation sous une forme stable. Ce but peut d'ailleurs être considéré comme atteint, puisque 65 % des bases extraites ont pu être transformées en sels stables.

Cependant, il faut remarquer que par ce fractionnement tout à fait empirique, on a pu séparer plusieurs bases cristallisées dont la répartition dans les différentes fractions est nettement limitée. Par exemple, la cassaïne n'a été isolée que de la « Fraction I », les

alcaloïdes « A » et « B » des fractions adjacentes II *c*, III et IV, l'alcaloïde « C » de la fraction II *a* et la cassaidine des fractions de bisulfates I et IV.

Un essai de séparation des bases, purement qualitatif, par chromatographie sur papier, a montré que la technique habituelle de cette méthode n'était pas applicable aux alcaloïdes de l'*Erythrophleum*. Nous n'avons pas poussé les recherches dans ce sens, étant donné que ce problème s'éloignait trop du cadre de notre travail. Il mériterait certainement d'être repris.

Il serait intéressant, d'autre part, d'essayer la séparation des bases des diverses fractions par la méthode de CRAIG (4). Cette méthode pourrait même, éventuellement, être utilisée préparativement.

2. ÉTUDE DES ALCALOÏDES « A » ET « B ».

Lors de la préparation de sels des alcaloïdes de l'*Erythrophleum guineense* en vue de les séparer en fractions stables, nous avons été frappé par l'aspect cristallin des bromhydrates formant la « Fraction III ». Une chromatographie des bases de cette fraction nous a permis d'en extraire deux alcaloïdes bien définis que nous avons dénommés provisoirement « A » et « B » et dont nous donnons la description détaillée ci-après. (Voir p. 11.)

L'alcaloïde « A », difficilement soluble dans l'éther, est purifié par recristallisation dans ce solvant; il fond à 149-151° et l'analyse centésimale fournit des valeurs permettant de lui attribuer la formule brute $C_{25}H_{39}O_6N$. Le point de fusion et la formule brute correspondent aux caractéristiques de l'alcaloïde « A » isolé par RUZICKA, PLATTNER et ENGEL (26); un point de fusion de mélange des deux bases a été effectué. On n'a pas observé de dépression; on peut donc conclure à l'identité des deux bases. Le pouvoir rotatoire de la base « A » isolée par les auteurs précités des eaux mères de la coumingine est renseigné comme ayant une valeur de -49° . Il s'agit vraisemblablement d'une erreur, car la même base isolée des eaux mères de la cassaine dévie le plan de la lumière polarisée de $-62,5^\circ$. Cette valeur est confirmée par le pouvoir rotatoire des différents dérivés de cet alcaloïde.

L'analyse montre la présence d'un groupement méthoxyle.

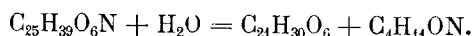
Le spectre d'absorption dans l'ultra-violet montre un maximum correspondant à $\lambda_{\max} = 225 \text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 4,2$. Ces valeurs indiquent dans la molécule une double liaison située en α , β du groupement carboxyle.

Presque tous les sels de cet alcaloïde sont amorphes; seul un picrate a pu être obtenu cristallisé en longues aiguilles, F 184-187°.

Par acétylation, on n'obtient que des produits amorphes.

L'hydrolyse acide de la base « A » permet la séparation d'un acide non azoté, cristallisant en paillettes F 214-217°, $[\alpha]_D = -63^\circ$. Il répond à la formule $C_{21}H_{30}O_6$ et contient un groupement méthoxyle. Dans les eaux mères de l'hydrolyse, on peut séparer le β -diméthyl-aminoéthanol, caractérisé par le point de fusion de son chloraurate F 189°.

L'hydrolyse peut donc se représenter, comme dans le cas des autres alcaloïdes cristallisés de l'*Erythrophleum*, par l'équation



La méthylation de l'acide « A » par le diazométhane fournit un produit cristallisé fondant à 178°. L'analyse fournit des valeurs répondant à la formule prévue $C_{22}H_{32}O_6$. L'ester méthylique a un pouvoir rotatoire de -65° .

L'ester méthylique « A » a été acétylé. L'acétate fond à 173°, $[\alpha]_D = -59^\circ$.

De cette façon, quatre des six atomes d'oxygène de la molécule sont déterminés dans les différentes fonctions. La préparation d'un dérivé cétonique a permis de déterminer le cinquième. Par action de l'hydroxylamine sur l'ester méthylique « A », on obtient une monoxime $C_{22}H_{33}O_6N$ fondant entre 182 et 184°.

Il n'a pas été possible de caractériser de façon certaine le sixième atome d'oxygène de la molécule, bien qu'un autre essai d'oximation ait fourni, en très faible rendement, un produit cristallisé, F 228-229°, donnant à l'analyse une valeur de N qui pourrait correspondre à un produit de réaction de l'ester avec deux molécules d'hydroxylamine et élimination d'une molécule de méthanol.

En résumé, des six atomes d'oxygène de la molécule de l'alcaloïde « A », deux font partie d'un groupement carboxyle, le troisième d'un groupement méthoxyle, le quatrième d'un groupement hydroxyle et le cinquième d'un groupement carbonyle. Quant au rôle du sixième, on en est réduit à des hypothèses : soit qu'il fasse partie d'un groupement carbonyle stériquement empêché, soit qu'il forme un pont éther dans la molécule comme dans le cas de certains dérivés du manool (15). Le manque de matériel préparé nous a empêché de vérifier ces hypothèses.

La marche à suivre pour mener à bien ce travail serait l'hydrogénation catalytique de la double liaison suivie d'une réduction du ou des groupements carbonyles par l'hydrogène naissant et la caractérisation des fonctions hydroxyles du diol ou triol formé.

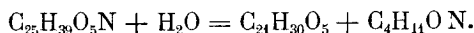
L'alkaloïde « B » obtenu par cristallisation des fractions très solubles dans l'éther de pétrole des chromatogrammes des bases de la « Fraction III » (cf. p. 11) fond à 86-87° et possède un pouvoir rotatoire $[\alpha]_D = -56^\circ$.

L'analyse centésimale donne des valeurs de C, H et N qui permettent de calculer une formule brute $C_{25}H_{39}O_5N$ et une valeur de OCH_3 correspondant à un groupement méthoxyle.

Le spectre d'absorption dans l'ultra-violet montre un maximum correspondant à $\lambda \text{ max} = 225 \text{ m}\mu$ et $\log \epsilon = 4,2$, ce qui laisse prévoir dans la molécule une double liaison en α, β du groupement carboxyle.

L'action des acides dilués sur l'alkaloïde « B » provoque l'hydrolyse de la molécule avec formation d'un acide non azoté $C_{21}H_{30}O_5$ et de β -diméthylaminoéthanol caractérisé par le point de fusion et l'analyse de son chloraurate.

L'hydrolyse peut donc se représenter par l'équation



L'ester méthylique « B » a été préparé par action du diazométhane sur l'acide. Le produit, amorphe, distille à 120° sous 0,01 mm et présente un point de ramollissement situé entre 60 et 65°. L'analyse donne les valeurs calculées pour la formule $C_{22}H_{32}O_5$.

L'ester de p-phénylphénacyle de « B » est, au contraire de l'ester méthylique, fort bien cristallisé. Il fond à 127-131° et cristallise probablement avec $\frac{1}{2}$ molécule d'alcool de cristallisation, comme le montrent les résultats d'analyse obtenus pour le produit fondu ou non avant la combustion.

Deux dérivés cétoniques de l'ester méthylique « B » ont été préparés : une 2-4-dinitrophénylhydrazone fondant à 227-228° et une oxime fondant à 96-98° et cristallisant avec $\frac{1}{2}$ molécule d'eau de cristallisation.

L'analyse de ces deux produits montre sans équivoque qu'il s'agit de dérivés monocétoniques.

Des cinq atomes d'oxygène de la molécule de la base « B », deux font partie d'un groupement carboxyle, le troisième d'un groupement méthoxyle, le quatrième d'un groupement carbonyle. La fonction du dernier atome d'oxygène n'a pu être déterminée. Une fonction hydroxyle est exclue pour plusieurs raisons : a) la position de la substance dans le chromatogramme; b) les résultats d'analyse de la base, de ses sels et de ses dérivés; c) l'absorption dans l'infra-rouge ne montrant pas la bande caractéristique du groupement OH.

On en est donc réduit aux mêmes hypothèses que pour le sixième atome d'oxygène de la molécule de la base « A », c'est-à-dire que

l'on pourrait envisager la présence d'un groupement carbonyle stériquement empêché ou la présence d'une fonction éther dans la molécule.

Pour la façon de déterminer la fonction de cet oxygène, on peut s'en référer à la méthode préconisée plus haut pour la détermination du dernier atome d'oxygène de la base « A ». (Cf. p. 14.)

3. EXAMEN D'ÉCORCES D'ERYTHROPHLEUM DE DIVERSES PROVENANCES.

1. *Erythrophleum africanum*. — Un échantillon de cette espèce nous a été fourni par la Division Botanique du Comité Spécial du Katanga à Elisabethville (Congo belge). Sa teneur en alcaloïdes est très faible (0,007 % du poids des écorces), ce qui ne nous a pas permis de fractionner les bases.

2. *Erythrophleum guineense*. — Un échantillon de cette espèce nous a également été fourni par le Comité Spécial du Katanga. Sa teneur en alcaloïdes est de l'ordre de 0,2 % du poids des écorces. Les écorces provenaient de sujets très jeunes et contenaient de grosses quantités de chlorophylle. Un fractionnement des bases suivant le schéma utilisé dans ce travail a montré que la « Fraction I » et par conséquent la cassaine y sont inexistantes.

3. *Erythrophleum guineense* provenant de la forêt du Kivu (altitude environ 1.000 m). La teneur en alcaloïdes totaux de cette écorce est d'environ 0,2 % de son poids. Un fractionnement montre la présence de cassaine et des diverses fractions rencontrées dans le lot principal.

4. *Erythrophleum guineense* provenant de la région de Boma (Bas-Congo). — La teneur en alcaloïdes de ce lot très important est très faible (0,045 % du poids des écorces). On peut affirmer qu'il s'agit là d'une perte de principes actifs due au temps très long (environ 12 mois) durant lequel ce lot a attendu d'être embarqué pour l'Europe dans des conditions de température et d'humidité très favorables à une décomposition des bases.

5. *Erythrophleum guineense* provenant de Yangambi (province de Stanleyville, Congo belge). — Ces écorces ont montré une teneur d'environ 0,3 % de leur poids en alcaloïdes totaux. C'est cette teneur plus élevée qui nous a fait choisir les écorces de cette origine pour le travail d'isolement qui vient d'être décrit dans la première partie de ce travail.

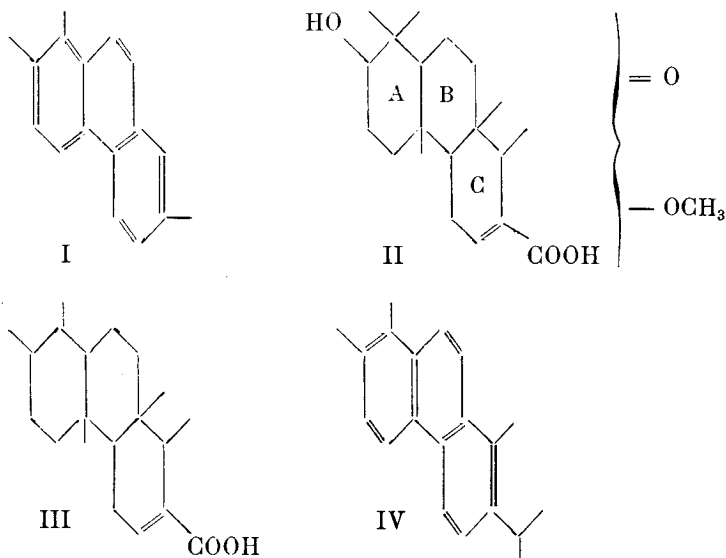
4. ESSAI DE PRÉPARATION DE L'ACIDE CASSÉNIQUE.

La préparation de l'acide cassénique était nécessaire comme point de départ pour la détermination de la position du groupement carboxyle dans l'acide cassanique. Cette position est, en effet, toujours indéterminée.

BLOUNT, OPENSHAW et TODD (3), étudiant la déshydrogénation de l'acide érythrophléique qui provenait de l'hydrolyse du sulfate d'érythrophléine « Merck », ont obtenu le 1,2,8-triméthylphénanthrène (I). Ils ont, de ce fait, proposé pour l'acide érythrophléique un squelette (II) dans lequel l'anneau « A » présente la structure caractéristique des triterpènes.

D'autre part, RUZICKA, DALMA et SCOTT (22 a) obtinrent ce même triméthylphénanthrène par déshydrogénation de l'acide cassanique. Or, dans ce produit, le groupement hydroxyle, admis par TODD et coll. comme se trouvant dans l'anneau « A », est absent. En conséquence, il est impossible, dans ce cas, d'envisager le déplacement d'un groupement méthyle par une transposition rétropinacolique, qui était à la base de la formulation des auteurs britanniques.

Se basant sur la règle de l'isoprène, on avait été amené à envisager l'arrangement (III) pour l'acide cassénique.



Dans le but de vérifier cette hypothèse, RONCO (18, 25) traita l'ester cassanique par le bromure de méthylmagnésium et déshydrogéné le produit obtenu dans lequel le groupement carboxyle se trouvait remplacé par un groupement isopropyle.

Il crut avoir obtenu le 1,2,8-triméthyl-7-isopropylphénanthrène (IV).

Dans la suite, BERSE (1a, 25) synthétisa cet hydrocarbure. Il n'était pas identique au produit obtenu par RONCO par déshydrogénation de l'acide cassanique.

La preuve était ainsi faite que la deuxième formule ne correspondait pas à la réalité.

Récemment, une étude comparative des spectres d'absorption dans l'ultra-violet des phénanthrènes substitués (non publiée) a montré que le produit de RONCO n'était probablement pas un phénanthrène tétrasubstitué, mais plutôt trisubstitué (par exemple un diméthylisobutylphénanthrène). Cette découverte surprenante semble indiquer que le groupement carboxyle de l'acide cassanique ne se trouve pas directement lié au noyau, mais en est séparé par un ou plusieurs groupements méthylène ($-\text{CH}_2-$ ou $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$), si toutefois on admet comme certain que le produit de déshydrogénation des acides dioxycassénique (19), cassanique (22a) et érythrophléique (3) est le 1-7-8-triméthylphénanthrène ou tout au moins un phénanthrène trisubstitué. L'identité de ce produit a été établie par point de fusion mixte de l'hydrocarbure, de son picrate et de son trinitrobenzolate avec les produits de synthèse correspondants. Il faut cependant tenir compte que cette preuve n'est pas absolue, étant donné qu'on a à plusieurs reprises observé dans la série des hydrocarbures alkylés des cas où des produits, bien que différents, ne donnaient pas de dépression du point de fusion par mélange (23, 24). Il est donc possible, bien que peu vraisemblable, que le triméthylphénanthrène soit un dérivé bisubstitué, par exemple un méthyléthylphénanthrène. Dans ce cas le groupement carboxyle de l'acide cassanique pourrait bien être lié à un anneau et le produit de déshydrogénation de RONCO (18, 25) être, par exemple, un méthyléthylisopropylphénanthrène.

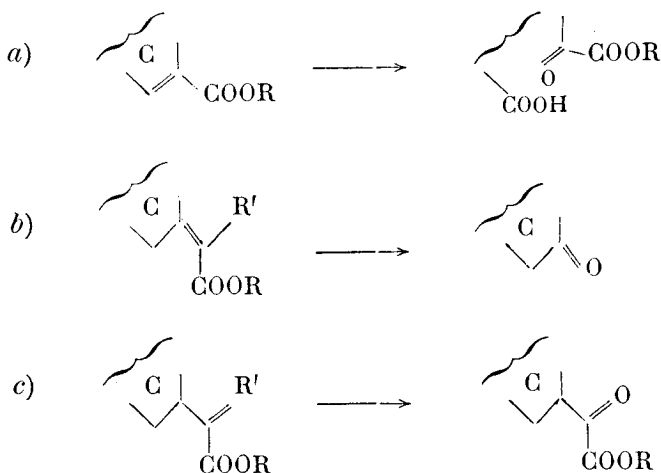
Devant l'échec des hypothèses structurales de TODD et coll. (3) et de RONCO (18), nous avons préféré nous abstenir de proposer une nouvelle formule de structure. Il nous a semblé mieux indiqué de fixer, en premier lieu, la position du groupement carboxyle.

La marche à suivre qui se présente immédiatement est la dégradation de la double liaison caractéristique de tous les alcaloïdes isolés jusqu'à présent de l'écorce d'*Erythrophleum*.

Comme la double liaison se trouve en α , β par rapport au groupement carboxyle, une dégradation en cet endroit devrait donner une indication précise quant à l'emplacement de la fonction acide. Il nous semble qu'une dégradation par ozonisation est tout indiquée pour avoir la priorité.

On pourrait aussi envisager la possibilité d'une dégradation systématique à partir d'un produit saturé d'après le schéma utilisé dans le cas des acides biliaries (29).

Dans le cas de l'ozonisation, on peut envisager trois possibilités suivant la position de la double liaison : *a)* endocyclique, *b)* semicyclique, *c)* exocyclique. La réaction, se passant suivant le schéma ci-dessous :



devrait donner : *a)* un diacide cétonique avec le même nombre d'atomes de carbone que le produit de départ; *b)* par dégradation, formation d'une cétone tricyclique avec élimination de la chaîne latérale; *c)* un acide cétonique avec élimination d'un ou plusieurs atomes de carbone de la chaîne latérale.

Pour réaliser ce travail, il faut être en possession d'un produit de départ possédant la double liaison à son emplacement primitif et ne contenant pas de groupements attaquables par l'agent d'oxydation choisi. Le produit de départ idéal est donc l'acide cassénique et nous nous sommes attaché à sa préparation.

La méthode que nous avons choisie est la réduction de l'acide dicétocassénique, ou bisdihydrocassaïdinique, d'après la méthode de WOLFF-KISHNER. Nous avons opéré comme suit :

Nous avons oxydé de l'acide cassaïdinique, ou dioxycassénique, d'après le procédé utilisé plusieurs fois déjà notamment par DALMA (20, 28). D'autre part, nous avons oxydé directement le chlorhydrate de cassaïdine en bisdihydrocassaïdine, base jusqu'à présent non décrite. Celle-ci peut être facilement hydrolysée en fournissant de l'acide dicétocassénique.

L'acide cassaïdinique, $C_{20}H_{32}O_4$, ou acide dioxycassénique, F 273-275°, $[\alpha]_D = -94^\circ$, donne par oxydation à l'acide chromique un rendement de 60 % d'acide dicétocassénique fort impur : F 238°, $[\alpha]_D^{20} = -131^\circ$ [DALMA (20) $[\alpha]_D = -146^\circ$, SCOTT (28) $[\alpha]_D = -152^\circ$]. Il faut noter que le rendement s'élève si l'on utilise un fort excès de CrO_3 (1,5 équiv.).

Si, d'autre part, on oxyde le chlorhydrate de cassaïdine et si l'on hydrolyse la base obtenue (bisdéhydrocassaïdine) par un acide dilué, on obtient en même rendement de 60 % l'acide dicétocassénique *presque pur*, F 251-252°, $[\alpha]_D = -150,5^\circ$.

Le procédé utilisé est le suivant :

Le chlorhydrate de cassaïdine est oxydé par l'acide chromique. Après réaction, on extrait la base oxydée par alcalinisation et extraction à l'éther. La bisdéhydrocassaïdine cristallise avec une certaine difficulté et donne de fines aiguilles de l'éther/éther de pétrole, F 110-112°, $[\alpha]_D = -130^\circ$. Son oxalate cristallise fort bien dans l'acétone en petites aiguilles disposées en oursins. Il fond à 205-206°, possède un pouvoir rotatoire de -115° environ et donne à l'analyse des valeurs de C, H et N correspondant à la formule calculée pour ce sel : $C_{24}H_{37}O_4N.C_2H_2O_4$. Par hydrolyse acide de cet oxalate, on obtient en bon rendement l'acide dicétocassénique $C_{20}H_{32}O_4$, F 251°, $[\alpha]_D^{20} = -150,5^\circ$.

Des deux méthodes, la deuxième est sans conteste la meilleure. La bisdéhydrocassaïdine se laisse très facilement purifier par son oxalate et l'acide dicétocassénique que l'on obtient par hydrolyse de ce sel est beaucoup plus pur que celui qui provient de l'oxydation de l'acide dioxycassénique.

Nous avons alors réduit l'acide dicétocassénique d'après WOLFF-KISHNER.

Une première réduction a donné naissance à un mélange amorphe d'acides à partir duquel, par méthylation et chromatographie des esters, on a pu isoler de petites quantités de produits en deux fractions à pouvoir rotatoire de signes opposés. Ces deux fractions d'esters méthyliques sont amorphes. La variation continue du pouvoir rotatoire dans le chromatogramme semble prouver que l'on a affaire à un mélange de deux isomères [cf., à ce propos, les isomères de l'acide cassanique (18)].

La fraction positive représentant environ 15 % de l'ester du produit de réduction, $[\alpha]_D^{20} = +21^\circ$, a donné à l'analyse des valeurs correspondant à la formule $C_{21}H_{34}O_2$ calculée pour l'ester méthylique de l'acide cassanique.

La petite quantité de produit à pouvoir rotatoire négatif était insuffisante pour être préparée pour l'analyse.

Une réduction par la même méthode portant sur une deuxième portion d'acide dicétocassénique a permis d'isoler deux acides cristallisés qui ne correspondent ni l'un ni l'autre à la formule de l'acide cassénique.

Le premier de ces acides, F 181-185° et $[\alpha]_D^{20} = +81^\circ$, est obtenu dans les eaux mères d'extraction du produit de réaction. L'analyse fournit des valeurs correspondant plutôt à celle que l'on pourrait déduire d'une formule $C_{20}H_{32}O_3$ représentant un acide monooxycassénique.

Le second de ces acides cristallisés se trouve dans la fraction principale obtenue par l'extraction à l'éther du produit de réaction. Il est difficilement soluble dans l'éther, a un point de fusion de 236-237° et un pouvoir rotatoire de +76°.

Encore une fois, on se trouve en présence d'une substance différente de l'acide cassénique. Les valeurs fournies par l'analyse pourraient aussi correspondre à la formule d'un acide monooxycassénique.

Le reste des produits de réaction n'a pas été étudié. Il s'agit probablement d'un mélange de plusieurs acides casséniques isomères (éventuellement avec déplacement de la double liaison) [cf. l'acide allo-cassainique de DALMA (7)].

Bien que le manque de temps nous ait empêché d'étudier complètement tous les produits de la réduction de l'acide dicétocassénique d'après WOLFF-KISHNER, on peut néanmoins conclure que cette méthode présente, dans le cas qui nous occupe, trop de difficultés pour pouvoir être appliquée préparativement.

Il serait probablement préférable d'essayer une ozonisation directe de l'acide dicétocassénique. Dans l'éventualité où les résultats de cette méthode seraient également peu satisfaisants, on devrait recourir à un autre procédé de réduction de l'acide dicétocassénique en acide cassénique [par exemple, par désulfuration des thioacétals (1, 14, 30)], ou bien recourir à la dégradation systématique de la chaîne latérale de l'acide cassénique à partir du groupement carboxyle d'après la méthode de BARBIER-WIELAND (29).

RÉSUMÉ.

Plusieurs échantillons d'*Erythrophleum* provenant de diverses régions du Congo belge ont été examinés. La teneur en alcaloïdes est variable. Nous avons étudié de façon approfondie celui de ces échantillons qui montrait la teneur la plus intéressante. Il s'agit d'écorces d'*Erythrophleum guineense* provenant de la Province de Stanleyville.

Le fractionnement des bases extraites de ce lot a permis d'isoler plusieurs alcaloïdes cristallisés, dont la cassaine et la cassaidine déjà connues. Deux autres bases, que nous avons provisoirement appelées « A » et « B », ont été préparées sous forme cristalline. Une troisième a été isolée sous forme de chlorhydrate cristallisé (base « C »).

La base « A », $C_{25}H_{39}O_6N$, F 149-151°, $[\alpha]_D = -62,5^\circ$ est identique à l'alcaloïde « A » isolé par ENGEL des eaux mères de la coumin-gine.

La base « B », $C_{25}H_{39}O_5N$, F 86-87°, $[\alpha]_D = -56^\circ$, est une base nouvelle qui, à notre connaissance, n'a jamais été signalée.

Le chlorhydrate de la base « C », F 214-217°, $[\alpha]_D = -48,5^\circ$, n'a pas été étudié de façon approfondie. Sa formule, déduite de l'analyse centésimale, pourrait être $C_{28}H_{45}O_5N.HCl$.

Les bases « A » et « B » possèdent toutes deux un groupement méthoxyle et une double liaison en α , β d'un groupement carboxyle. Cette dernière propriété est commune avec les autres alcaloïdes de l'*Erythrophleum* déjà isolés ainsi que la propriété de libérer par hydrolyse du β -diméthylaminoéthanol, d'une part, et un acide en C_{20} , d'autre part.

Enfin, nous avons essayé de préparer de l'acide cassénique par réduction de l'acide dicétocassénique d'après WOLFF-KISHNER. A partir du produit de réduction nous n'avons pu isoler qu'une très petite quantité d'un produit qui pourrait représenter un mélange de deux isomères de l'acide cassénique. Deux autres produits de réduction ont été isolés. Ils pourraient représenter des acides monoxyccasséniques. En conclusion, on peut dire que cette méthode fournit un mélange complexe de plusieurs produits de réduction et qu'elle ne peut pas être utilisée dans le but que nous poursuivions.

PARTIE EXPÉRIMENTALE ⁽¹⁾.

1. ISOLEMENT.

A. — EXTRACTION DES BASES ET FRACTIONNEMENT.

Examen préliminaire des écorces d'*Erythrophleum guineense* provenant de la région de Yangambi (Province de Stanleyville).

500 g d'écorces sont pulvérisés puis mélangés intimement à 250 cm³ d'ammoniaque à 10 %. La masse ainsi obtenue est transvasée dans un ballon de 5 l et macérée pendant une nuit avec 2,5 l d'éther. Après filtration, on lave la poudre deux fois avec 0,5 l d'éther, on réunit les solutions éthérées et on les évapore à 0,5 l. Cette solution est alors extraite par trois agitations à HCl 2N, puis à l'eau à peine acide jusqu'au moment où l'on n'observe plus de trouble de la solution acide par addition de soude.

Les solutions acides sont réunies, refroidies à 0° et rendues fortement alcalines par NaOH diluée. Les bases libérées sont extraites par trois agitations à l'éther.

Les solutions éthérées sont réunies, séchées sur sulfate de soude anhydre et évaporées à sec.

Bases totales : 1,40 g, soit 0,28 % du poids des écorces.

Extraction de grosses quantités d'écorces.

5 kg d'écorces sont réduits en poudre et intimement mélangés à 2,5 l d'ammoniaque à 10 %. La masse est macérée durant une nuit avec 10 l d'éther. Après une décantation, la masse restant dans le percolateur est traitée par une deuxième portion de 5 l d'éther pendant 8 h, la solution éthérée de la deuxième décantation servant à une opération ultérieure.

L'extrait éthéré est évaporé à 0,5 l ⁽²⁾.

Les extraits éthérés de 4 macérations ont été réunis (l'extraction C du tableau I a été prise comme exemple), agités trois fois avec 100 cm³ d'HCl 2N, puis avec des quantités moindres d'eau acidulée, jusqu'à fin de trouble, par addition d'une solution de NaOH. Les liqueurs

(1) Tous les points de fusion sont corrigés. La notation F (HV) signifie que le point de fusion a été déterminé en tube évacué sous haut-vide.

(2) Pour l'élaboration ultérieure des bases, les extraits éthérés de plusieurs opérations ont été réunis (Tableau I, p. 27).

acides sont réunies et rendues fortement alcalines par NaOH diluée. Pendant la neutralisation, la solution est maintenue à basse température par refroidissement dans un bain de glace. Il se sépare immédiatement un abondant précipité floconneux jaunâtre devenant rapidement huileux.

La solution alcaline contenant le précipité est extraite par trois agitations à l'éther; les solutions étherées réunies sont lavées par NaOH environ 1N, puis à l'eau distillée, séchées sur sulfate de soude anhydre, distillées et évaporées à sec sous pression réduite à basse température.

On obtient 44,4 g de bases totales.

Fractionnement des bases.

« *Fraction I* ». *Bisulfates*. — 44,4 g de bases sont dissous dans 50 cm³ d'acétone; une solution à 10 % d'H₂SO₄ dans l'acétone, utilisée immédiatement après sa préparation, est ajoutée goutte à goutte jusqu'à réaction acide au papier de Congo. On porte le volume à 175 cm³ (soit 4 fois, en volume, le poids des bases traitées) au moyen d'acétone. La liqueur, qui s'était échauffée, laisse, en se refroidissant, déposer un précipité cristallin. Après quelques heures, on filtre. Les bisulfates ainsi obtenus sont séchés dans un dessiccateur évacué contenant KOH et H₂SO₄.

Bisulfates I : 4,42 g.

Les eaux mères sont évaporées à sec sous vide à basse température et reprises par l'eau. La solution est agitée trois fois à l'éther pour éliminer les impuretés acides ou neutres.

La solution aqueuse est alors rendue fortement alcaline, à froid, par NaOH diluée et les bases libérées sont extraites par 3 agitations à l'éther. Les liqueurs étherées traitées comme précédemment et évaporées à sec laissent un résidu de bases amorphes pesant 38,8 g.

« *Fraction II a* ». *Oxalates insolubles dans un mélange méthanol/acétone 2:1*. — 38,8 g de bases sont dissous dans 120 cm³ d'acétone (soit 3 fois, en volume, le poids des bases traitées); la solution est chauffée au bain-marie et l'on y ajoute une solution chaude de 10 g d'acide oxalique dans 240 cm³ de méthanol (soit $\frac{1}{4}$, en acide oxalique, du poids des bases ou environ 2 équivalents calculés sur la base de la cassaine, et en méthanol, 2 fois le volume d'acétone).

Par refroidissement, un précipité légèrement gélatineux se sépare lentement. Après une nuit, on filtre, lave avec un mélange méthanol/acétone 2:1, puis à l'acétone seule. On sèche le précipité dans un dessiccateur évacué, sur KOH et H₂SO₄.

Oxalates IIa 6,55 g, F (HV) 155—156° [α]_D = -57° ± 2
(alcool 50 % c = 1).

Le solvant des eaux mères est distillé sous pression réduite à une température inférieure à 45°. Le résidu est repris par l'eau et débarrassé des substances acides et neutres par lavage à l'éther. Par extraction des bases, on obtient 28,1 g de bases amorphes.

« *Fraction II b* ». *Oxalates insolubles dans un mélange méthanol/acétone 1 : 2*. — 28,1 g de bases sont dissous dans 280 cm³ d'acétone (soit 10 fois, en volume, le poids des bases traitées) et l'on y ajoute, à chaud, 7 g d'acide oxalique crist. (soit env. 2 équiv. calculés sur la base de la cassaine) dans 140 cm³ de méthanol (soit $\frac{1}{2}$ fois le volume d'acétone). Par refroidissement de la solution, il se sépare un précipité du même aspect que le précédent.

Après une nuit, on filtre, lave d'abord avec un mélange de méthanol/acétone 1 : 2 puis à l'acétone seule. Après dessiccation dans les mêmes conditions que précédemment, on obtient :

Oxalates IIb 3,55 g, F (HV) 160—161°, $[\alpha]_D^{20} = -51^\circ \pm 4$
(alcool 50% c = 1).

Les eaux mères sont traitées comme précédemment et fournissent 22,3 g de bases amorphes.

« *Fraction II c* ». *Oxalates insolubles dans un mélange méthanol/acétone 1 : 8*. — 22,3 g de bases sont dissous dans 300 cm³ d'acétone et traités à chaud par 6 g d'acide oxalique crist. dissous dans 37 cm³ de méthanol (soit un volume total de 15 fois le poids des bases traitées). Par refroidissement, il se sépare un précipité de même aspect que les deux précédents. Après une nuit, on filtre, lave avec le mélange 1 : 8, puis à l'acétone seule. Après dessiccation, on obtient

7,28 g d'oxalates IIc F (HV) 131-132°, $[\alpha]_D^{25} = -52^\circ \pm 4$
(alcool 50% c = 1).

Les eaux mères sont traitées comme précédemment et fournissent 14,6 g de bases amorphes.

« *Fraction III* ». *Bromhydrates insolubles dans l'acétone/éther*. — 14,6 g de bases sont dissous dans 60 cm³ d'acétone (soit 4 fois, en volume, le poids des bases) et traités par une solution étherée d'acide bromhydrique jusqu'à réaction acide au papier de Congo. On porte le volume à 110 cm³ avec de l'éther; il se forme un précipité à aspect cristallin. On filtre, lave à l'acétone, puis à l'éther. Le précipité, fortement hygroscopique, est transféré immédiatement dans un dessiccateur préparé comme plus haut et que l'on évacue.

Bromhydrates III 4,7 g, F (HV) environ 180° $[\alpha]_D = -40^\circ$ environ
(alcool 50%).

Les eaux mères de la « Fraction III » provenant de 2 séries d'extractions ont été réunies (B et C du tableau I, p. 27) et traitées comme précédemment; elles fournissent 14,8 g de bases amorphes.

« Fraction IV ». *Bisulfates insolubles dans un mélange acétone/éther.* — 14,8 g de bases sont dissous dans l'acétone et additionnés de 3,8 g d'acide oxalique crist. en solution acétonique. Le volume est porté à 148 cm³ (soit 10 fois, en volume, le poids des bases). Après une nuit, le précipité, fortement gélatineux, est filtré, lavé à l'acétone et séché suivant la technique habituelle. Oxalates : 13,81 g.

Ces 13,81 g d'oxalates sont transformés en bases par la méthode habituelle — dissolution dans l'eau, alcalinisation, extraction à l'éther. Bases : 8,3 g.

Ces bases (8,3 g) sont dissoutes dans l'acétone et traitées par une solution acétonique à 10 % d'H₂SO₄ jusqu'à réaction acide au papier de Congo. Le volume est porté à 42 cm³ (soit 5 fois, en volume, le poids des bases). Cette solution est additionnée de 4 cm³ d'éther. Au repos, il se forme un précipité qui est filtré, lavé d'abord à l'acétone, puis à l'acétate d'éthyle et séché suivant la technique habituelle. Bisulfates IV 5,04 g, F (HV) de 155-160° (ramollissement sans formation de ménisque) à 220° (déc.) $[\alpha]_D = -54^\circ \pm 2$ (alcool 50 %).

« Fraction IV' ». *Bisulfates insolubles dans un mélange acétone/acétate d'éthyle 1:1.* — Les eaux mères de la « Fraction IV » contenant 160 cm³ de mélange acétone/acétate d'éthyle env. 1:1 sont maintenues plusieurs jours à une température de —10°. Le précipité qui se forme est filtré, lavé à l'acétate d'éthyle et séché.

Bisulfate IV' 0,85 g, F (HV) de 166° (même rem. que plus haut) à 220° (déc.) $[\alpha]_D = -62^\circ \pm 4$ (alcool 50%).

Les bases des eaux mères sont libérées par filtration sur une colonne d'alumine (2), l'éthanol servant d'éluant.

On obtient de cette façon 4,88 g de bases amorphes.

« Fraction V ». *Oxalates insolubles dans l'acétone.* — 4,38 g de bases dissous dans le minimum d'acétone sont traités par 1,2 g d'acide oxalique crist. en solution acétonique. Le volume est porté à 80 cm³ au moyen d'acétone. Le précipité qui se forme est filtré, lavé à l'acétone et séché.

Oxalates V : 4,36 g.

TABLEAU I. — Rendement des diverses fractions.

DÉSIGNATION	A	B	C	D	E
Date d'extraction	9-47	9-47	9-47	11-47	11-47
Écorces kg	20	15	20	25	55
Bases totales g	32,4	34,7	44,4	23,3	18,0
‰ des écorces	1,67	2,31	2,22	0,83	0,33
Bisulfates I g	3,9	3,66	4,42	1,43	2,69
% bases totales	9,7	8,5	8,0	4,9	15,0
Oxalates IIa g	2,42	7,80	6,65	3,04	0
% bases totales	6,2	18,6	12,4	13,0	0
Oxalates IIb g	5,27	3,52	3,55	2,65	0,8
% bases totales	13,4	8,4	6,6	9,4	3,7
Oxalates IIc g	2,7	2,98	7,28	1,82	3,2
% bases totales	6,9	7,1	13,5	6,4	14,7
Bromhydrates II g	6,60	5,00	5,30	5,27	
% bases totales	17,0	14,4	10,0	11,3	
Bisulfates IV g	non préparé	5,04		non préparé	
% bases totales		5,2			
Bisulfates IV' g	non préparé	0,85		non préparé	
% bases totales		1,1			
Oxalates V g	non préparé	4,36		non préparé	
% bases totales		4,6			
Résidu (bases) g	3,97	2,16		7,39	
% bases totales	12,2	2,7		17,9	
Total des bases récupérées :					
% bases totales	65,4	65,9		63,1	

Rendement en bases totales au 9-47 : 0,28 %

Rendement en bases totales au 4-48 : 0,08 %

TABLEAU II. — Constantes des diverses fractions.

		A	B	C	D	E
		En degrés				
Oxalates IIa	F	161	159-160	156	—	—
	$[\alpha]_D$	-50	-52	-57	—	—
Oxalates IIb	F	162	159	160	—	—
	$[\alpha]_D$	-48	-49	-51	—	—
Oxalates IIc	F	133	127	129	—	—
	$[\alpha]_D$	-51	-53	-52	—	—
Bromhydrates III	F	179	183	180	189	—
	$[\alpha]_D$	-28	-42	-40	-33	—
Bisulfates IV	F		160-220			
	$[\alpha]_D$		-54			
Bisulfates IV'	F		166-220			
	$[\alpha]_D$		-62			

NOTE : Tous les points de fusion sont pris en tubes capillaires évacués sous haut-vide.

Tous les pouvoirs rotatoires ont été déterminés dans l'alcool à 50 %.

B. — EXAMEN DES DIVERSES FRACTIONS.

« Fraction I. »

Bisulfate de cassaine. — 16,65 g de bisulfate I sont dissous dans le minimum de méthanol bouillant. Par refroidissement se séparent de fines paillettes brillantes. Après dessiccation à l'air, le point de fusion est de F(VH) 290° (déc.). Des recristallisations ultérieures ne modifient pas le point de fusion.

Bisulfate de cassaine : 9,03 g, soit, en cassaine, 5,25 % des bases totales.

F (HV) 290° (déc.) $[\alpha]_D^{23} = -94^\circ \pm 2$ (H_2SO_4 , 0,1 N c=1).

Pour l'analyse, le produit a été séché à l'air, à température ambiante jusqu'à poids constant.

3,770 mg de subst. fournissent 7,750 mg CO ₂ et 2,756 mg H ₂ O.	
3,924 mg de subst. fournissent 0,080 cm ³ N ₂ (16°, 722mm).	
C ₂₄ H ₃₉ O ₄ N.H ₂ SO ₄ .2 H ₂ O calculé	C 53,39 H 8,41 N 2,59.
Idem, anh.	C 57,23 H 8,21 N 2,79.
Idem, $\frac{1}{2}$ H ₂ O	C 56,27 H 8,26 N 2,74.
trouvé	C 56,10 H 8,18 N 3,07.

Détermination de l'eau de cristallisation. — 105,3 mg de bisulfate de cassaine sont placés dans un dessiccateur évacué sur P₂O₅. Le poids de la substance est vérifié toutes les 24 h.

Après 24 h, perte de poids	2,4 mg.
Après 48 h, perte de poids	2,5 mg.
Après 7 jours, perte de poids	2,5 mg.

Laissé à l'air pendant trois jours, l'échantillon reprend son poids primitif de 105,3 mg.

Eau de cristallisation trouvée	2,38 %.
$\frac{1}{2}$ H ₂ O calculé	2,03 %.

Cassaine. — La base obtenue à partir du bisulfate de cassaine pur est recristallisée dans l'éther jusqu'à point de fusion constant. F 142,5° [DALMA (6, 7) F 142,5°].

Pour l'analyse, le produit est séché sous haut-vide à 40° pendant 48 h.

3,786 mg de subst. fournissent 9,847 mg CO ₂ et 3,306 mg H ₂ O.	
5,922 mg de subst. fournissent 0,179 cm ³ N ₂ (20°, 723 mm).	
C ₂₄ H ₃₉ O ₄ N calculé	C 71,07 H 9,65 N 3,45.
trouvé	C 70,98 H 9,77 N 3,34.
$[\alpha]_D^{23} = -110^\circ 5 \pm 2$ (alcool 95 % c=0,94) (DALMA, l. c. $[\alpha]_D = 111^\circ$).	
$[\alpha]_D^{23} = -101^\circ \pm 2$ (HCl 0,1 N c=0,62) (l. c. $[\alpha]_D = -117^\circ$).	

Chlorhydrate de cassaine. — La cassaine pure est dissoute dans l'éther et traitée par une solution étherée de HCl jusqu'à réaction acide au papier de Congo. Le précipité cristallin formé est filtré et recristallisé dans un mélange alcool/méthyléthylcétone/éther (1 : 1 : 4) jusqu'à point de fusion constant F 220° (l.c. 212-213°).

Pour l'analyse, le produit est séché sous haut-vide à 60° pendant 48 h.

3,610 mg de subst. fournissent 8,271 mg CO₂ et 2,982 mg H₂O.

3,148 mg de subst. fournissent 0,089 c³ N₂ (19°, 755 mm).

4,941 mg de subst. fournissent 1,571 mg AgCl.

C ₂₄ H ₃₉ O ₄ N.HCl.1 H ₂ O	calculé	C 62,66	H 9,20	N 3,04	Cl 7,71.
	trouvé	C 62,53	H 9,24	N 3,15	Cl 7,87.

Bromhydrate de cassaine. — 70 mg de base pure sont dissous dans 5 cm³ d'acétone. On y ajoute goutte à goutte une solution étherée d'acide bromhydrique jusqu'à réaction acide. Le précipité cristallin est filtré, lavé et recristallisé dans l'acétone jusqu'à point de fusion constant. Le sel cristallise en fines aiguilles blanches. F (HV) 221-225° (déc.).

Pour l'analyse, le produit est séché sous haut-vide à 55° pendant 48 h.

3,908 mg de subst. fournissent 8,455 mg CO₂ et 2,909 mg H₂O.

C₂₄H₃₉O₄N.HBr calculé C 59,25 H 8,29.

trouvé C 59,04 H 8,33.

[α]_D²⁰ = -93° ± 2 (H₂O c=1,04).

Acétylcassaine. — 150 mg de base pure sont dissous dans 0,5 cm³ de pyridine et laissés en contact 18 h avec 1 cm³ d'anhydride acétique. Le produit est alors évaporé à sec sous pression réduite, repris plusieurs fois par un peu de méthanol et évaporé à sec en vue d'éliminer l'excès d'anhydride.

Le résidu est repris à l'éther, la solution étherée lavée à NaOH diluée, puis à l'eau, séchée sur sulfate de soude anhydre et évaporée. Le résidu amorphe, pesant 140 mg, est purifié par chromatographie sur une colonne d'alumine (alcaline, activité III-IV). On isole de la fraction éluee, par un mélange éther de pétrole/benzène 1 : 1, des cristaux fondant à 114-115°. Le produit est recristallisé dans l'éther/éther de pétrole. Le point de fusion se stabilise à 122-123° (DALMA, l. c., F 123-124°).

Pour l'analyse, le produit est séché sous haut-vide à 50° pendant 48 h.

3,719 mg de subst. fournissent 9,474 mg CO₂ et 3,132 mg H₂O.

C₂₆H₄₁O₅N calculé C 69,76 H 9,23.

trouvé C 69,52 H 9,42.

Cassaïdine. — Une tentative de séparer la cassaïdine des eaux mères de la « Fraction I » et des eaux mères de recristallisation du bisulfate de cassaïne, d'après la méthode préconisée par DALMA (20), a échoué. Nous avons réussi à préparer la cassaïdine à partir des eaux mères de recristallisation des bisulfates en utilisant la méthode suivante :

3,31 g de bases provenant des eaux mères de recristallisation de la « Fraction I » sont dissous dans le minimum d'éther et traités par une solution d'HCl dans l'éther, jusqu'à réaction acide. Le précipité cristallin est filtré et séché. Il pèse 3,40 g.

Ce chlorhydrate, dissous dans 10 cm³ d'acétone à l'ébullition, laisse, par refroidissement, se séparer 330 mg de cristaux fondant à 235-238°. Par évaporation des eaux mères à petit volume, on obtient une deuxième récolte de 200 mg F 236-238°.

Ces deux fractions réunies représentent environ 0,3 % de cassaïdine dans les bases totales. Elles sont dissoutes dans 10 cm³ d'alcool et filtrées sur une colonne d'alumine (activité I-II). Après élution avec 50 cm³ d'alcool, 480 mg de bases sont obtenus. Par recristallisation de ces bases dans l'éther/éther de pétrole, on sépare 400 mg de cristaux prismatiques incolores. Ces alcaloïdes sont retransformés en chlorhydrates, ces derniers sont recristallisés dans le méthanol/acétone jusqu'à constance de point de fusion. On obtient 170 mg, soit, en cassaïdine, environ 0,1 % du poids des bases totales. F (HV) 249-252°, $[\alpha]_D^{25} = -96^\circ \pm 2$ (H₂O c=0,75).

Un point de fusion mixte avec le chlorhydrate de cassaïdine ne donne pas de dépression.

Les autres bases (environ 40 % des bases de la « Fraction I ») n'ont pas été étudiées.

« Fraction IIa » (oxalates).

Chlorhydrate de l'alcaloïde « C ». — 500 mg d'oxalates IIa sont suspendus dans 50 cm³ d'eau et fortement alcalinisés par NaOH diluée. Les bases sont extraites par plusieurs agitations vigoureuses à l'éther. Les solutions éthérées, séchées sur sulfate de soude anhydre, sont distillées et évaporées à sec. On obtient 410 mg de bases amorphes.

Ces bases sont dissoutes dans 20 cm³ d'éther et traitées par une solution éthérée d'HCl jusqu'à réaction acide. Le précipité amorphe est décanté et séché au dessiccateur évacué sur KOH et H₂SO₄. Le produit ainsi obtenu est dissous dans 3 cm³ de méthanol chaud et cristallisé dans l'acétate d'éthyle. On obtient 100 mg de cristaux fondant à 212-213°.

Pour l'analyse, le sel est recristallisé plusieurs fois dans le méthanol/acétate d'éthyle, puis séché sous haut-vide à 60° pendant 48 h. F (HV) 217-220°.

3,462, 3,902 mg de subst. fournissent 8,728, 9,325 mg CO₂ et

2,845, 2,998 mg H₂O.

4,805 mg de subst. fournissent 0,133 cm³ N₂ (21°, 735 mm).

4,658 mg de subst. fournissent 1,314 mg AgCl.

C₂₇H₄₃O₅N.HCl calculé C 65,10 H 8,91 N 2,81 Cl 7,12.

C₂₈H₄₅O₅N.HCl calculé C 65,66 H 9,05 N 2,74 Cl 6,93.

trouvé C 65,40, 65,22 H 8,76, 8,60 N 3,11 Cl 6,98.

[α]_D²⁵ = -52°5 (H₂O c=1,26).

Par addition de 2 volumes d'éther aux eaux mères, on obtient une deuxième récolte de 60 mg de chlorhydrate F 175-185°. Par addition de 4 volumes d'éther, une troisième récolte de 70 mg F 203-205°. Soit au total 230 mg ou environ 50 % de la « Fraction II a ». Les bases de ce chlorhydrate cristallisé représentent environ 6 % des bases totales.

Bisulfate II a. — 670 mg de bases II a sont dissous dans 3 cm³ d'acétone et traités par une solution acétonique à 10 % d'H₂SO₄ jusqu'à réaction acide. On ajoute de l'éther à la solution jusqu'à trouble. Après plusieurs jours à la température de -10°, il se sépare un précipité cristallin pesant 130 mg. Le produit brut a un point de fusion F (HV) 114-116° (qui ne change pas après recristallisation) :

[α]_D⁴⁹ = -56°6 ± 2 (alcool 50 % c=0,925).

Pour l'analyse, le bisulfate a été séché sur pentoxyde de phosphore jusqu'à constance de poids.

3,922 mg de subst. fournissent 8,206 mg CO₂ et 2,839 mg H₂O.

7,788 mg de subst. fournissent 0,173 cm³ N₂ (17°, 738 mm).

6,793 mg de subst. correspondent à 1,152 cm³ KIO₃ 0,02-N.

C₂₈H₄₅O₆N.H₂SO₄ calculé C 57,02 H 8,03 N 2,38 S 5,44 %.

trouvé C 57,10 H 8,12 N 2,54 S 5,44 %.

« Fraction II b » (oxalates).

Cette fraction n'a pas été étudiée.

« Fraction II c » (oxalates).

Bisulfates II c. — 300 mg de bases de la fraction II c sont dissous dans l'acétone et traités par une solution acétonique à 10 % d'H₂SO₄ jusqu'à réaction acide. On ajoute de l'éther à la solution jusqu'à trouble et on laisse la solution plusieurs jours à la température de

— 10°. Il se forme un précipité cristallin qui, filtré, lavé et séché, pèse 20 mg.

F (HV) 251-254° (déc.) $[\alpha]_D^{25} = -73.06 \pm 2$ (H_2O $c=0,8$).

Vu la faible quantité de produit, ce bisulfate n'a pas été examiné.

Bromhydrate IIc. — Les eaux mères des bisulfates IIc sont évaporées et les bases en sont extraites.

Ces bases sont dissoutes dans 3 cm³ d'acétone et traitées par une solution étherée d'acide bromhydrique. On ajoute de l'éther jusqu'à trouble et on laisse plusieurs jours à basse température (— 10°). Il se sépare un précipité cristallin pesant 20 mg F (HV) 181-184°. Il s'agit probablement d'un mélange semblable à la « Fraction III » bromhydrates.

Chromatogrammes des bases de la « Fraction IIc ». — 650 mg d'oxalates sont dissous dans 30 cm³ d'alcool et filtrés sur une colonne d'alumine (alcaline, activité III-IV). Par lavage de la colonne avec 150 cm³ d'alcool, on élue 490 mg de bases. Ces bases sont dissoutes dans un mélange éther de pétrole/benzène 2 : 1 et chromatographiées sur 15 g d'alumine (alcaline, activité III-IV).

Fraction	Eluant	Volume	Poids	Observations
1 à 8	Ether de pétr./benz. 2 : 1	375	35	Am., tr. s. éth. de pétr.
9 à 11	Idem	125	30	Crist. base « B ».
12 à 16	Idem	375	10	Amorphe.
17 à 19	Benzène	100	20	Idem.
20 à 24	Benzène/éther	200	25	Crist. base « A ».
25 à 27	Jusqu'à méthanol ...	1.050	290	Amorphe, jaune.

Les deux bases cristallisées isolées de ce chromatogramme ont respectivement été identifiées par point de fusion et pouvoir rotatoire avec les bases « B » et « A » de la fraction III bromhydrates.

« Fraction III » (bromhydrates).

Bromhydrate III insoluble dans l'acétone. — 5,26 g de bromhydrates de la « Fraction III » sont recristallisés dans un mélange méthanol-acétone, puis dans l'alcool absolu jusqu'à point de fusion constant. On obtient 470 mg de bromhydrate, soit environ 1 % des bases totales. F (HV) 211-212°.

Pour l'analyse, le produit est séché sous haut-vide à 60° pendant 48 h.

3,975, 3,622, 3,571, 3,703 mg de subst. donnent 8,450, 7,670, 7,540,
7,828 mg CO₂ et 2,660, 2,439, 2,410, 2,502 mg H₂O.
6,020, 4,856, 4,794 mg de subst. fournissent 0,142 (20°, 730 mm),
0,123 (18°, 710 mm), 0,117 (18°, 732 mm) cm³ N₂.

5,320, 4,461, 3,746 mg de subst. fournissent 1,941, 1,617, 1,418 mg AgBr.

$C_{24}H_{37}O_5N.HBr$ calculé C 57,59 H 7,65 N 2,80 Br 15,97.
Idem trouvé C 58,01, 57,80, 57,62, 57,69 H 7,49, 7,54, 7,55, 7,56
N 2,64, 2,78 Br 15,52 15,42 16,11.

D'autre part, le Br a été déterminé par la méthode volumétrique de VOLHARD :

35,3, 14,95 mg de subst. utilisent 0,699, 0,3192 cm³ AgNO₃ 0,1 N
Trouvé Br 15,92, 16,02.

$C_{24}H_{37}O_5N.HBr$ poids moléculaire calculé 501,4.
trouvé 506.

$[\alpha]_D^{25} = +6.3 \pm 0,5$ (alcool 50 % c=2,22).

Chlorhydrate III. — 120 mg de bases III obtenues du bromhydrate recristallisé sont dissous dans 2,5 cm³ de méthyléthylcétone et traités par une solution étherée d'HCl jusqu'à réaction acide. Le précipité cristallin obtenu est recristallisé 5 fois dans un mélange méthanol/acétone.

Pour l'analyse, le produit est séché sous haut-vide à 60° pendant 48 h.

3,722, 3,722 mg de subst. fournissent 8,620, 8,623 mg CO₂ et 2,782, 2,760 mg H₂O.

4,862 mg de subst. fournissent 0,129 (19°, 717 mm) cm³ N₂.

4,922 mg de subst. fournissent 1,582 mg AgCl.

$C_{24}H_{37}O_5N.HCl$ calculé C 63,21 H 8,40 N 3,07 Cl 7,78.

trouvé C 63,20, 63,22 H 8,36, 8,30 N 2,93 Cl 7,95.

$[\alpha]_D^{20} = +7.7 \pm 0,4$ (H₂O c=1,05).

Acétylation. — 50 mg des bases provenant du bromhydrate recristallisé sont mis en contact avec 0,5 cm³ d'anhydride acétique pendant 2 h à 20°. Après évaporation à sec, on reprend à l'éther, lave la solution étherée, évapore à sec.

On obtient 40 mg de bases amorphes. Par cristallisation dans un mélange éther/éther de pétrole, on n'obtient que quelques cristaux F 145-148°, probablement identiques à l'alcaloïde « A » isolé par après.

Les eaux mères sont transformées en chlorhydrates fondant après plusieurs recristallisations à 195-196°. L'analyse fournit des valeurs différant un peu de celles du produit de départ, mais ne répondant pas du tout à la formule d'un dérivé acétylé.

3,760 mg de subst. fournissent 8,796 mg CO₂ et 2,790 mg H₂O.

2,766 mg de subst. fournissent 0,087 cm³ N₂ (22°, 733 mm).

$C_{24}H_{37}O_5N.HCl$ calculé C 63,21 H 8,40 N 3,07.

trouvé C 63,84 H 8,33 N 3,51.

Hydrolyse acide du chlorhydrate III. — 90 mg de chlorhydrate sont chauffés à reflux avec 20 cm³ d'HCl2N pendant 2 $\frac{1}{2}$ h. On obtient 50 mg de cristaux F 170-175°. Par ébullition prolongée, on peut séparer une deuxième fraction amorphe de 20 mg. Par recristallisation dans l'acétone/eau, puis dans l'éther, le point de fusion s'élève à 211-213°. La quantité de produit final était trop faible pour une analyse.

Préparation de la base. — 200 mg de chlorhydrate III sont dissous dans l'eau et la solution traitée à 0° par NaOH diluée jusqu'à alcalinisation. Les bases libérées sont extraites à l'éther; les solutions éthérées, lavées et séchées, sont évaporées à sec. On obtient 180 mg de bases amorphes.

Dans l'éther/éther de pétrole, on ne peut cristalliser que 40 mg de produit F 131-133°. Tous les essais de cristallisation dans les eaux mères sont restés infructueux.

Chromatogramme des bases III. — 1,100 g de bases, provenant du bromhydrate recristallisé, sont dissous dans un mélange éther de pétrole/benzène 1 : 2 et chromatographiés sur une colonne de 35 g d'alumine (alcaline, activité III-IV).

Fraction	Eluant	Volume	Poids	Observations
3	Éther de pétr./benz. 1 : 2	50	50	Am., tr. éther de pétr.
4 à 14	Idem	275	500	{ Idem. B.HCl F 188°.
15	Benzène	10	5	
16	Idem	10	tr.	
17	Idem	20	20	$[\alpha]_D^{22} = + 23^\circ$.
18 à 19	Idem	20	40	
20	Idem	10	20	$[\alpha]_D^{20} = + 29^\circ$.
21 à 22	Idem	20	25	
23	Idem	10	15	$[\alpha]_D^{40} = + 35^\circ$.
24 à 26	Benzène/éther	9 : 1	30	90
27	Idem	10	40	$[\alpha]_D^{20} = + 44^\circ$.
28	Idem	20	30	
29	Idem	20	30	$[\alpha]_D^{20} = + 51^\circ$.
30 à 31	Idem	40	20	
32 à 33	Benzène/éther	4 : 1	20	tr.
34 à 41	Idem	170	180	Crist. « A » F 147-149°.
42, etc.	Éther	100	tr.	

NOTE: Le pouvoir rotatoire du chlorhydrate a été déterminé dans l'eau, celui des différentes fractions dans l'alcool à 95 %.

Les fractions 3 à 15, soit 500 mg, sont réunies. Les bases sont dissoutes dans l'acétone et traitées par HCl en solution éthérée jusqu'à réaction acide.

Des cristaux se forment. Le chlorhydrate ainsi obtenu a un point de fusion F (HV) 189°, $[\alpha]_D^{21} = +5^\circ \pm 0,5$ (H₂O).

Après recristallisation dans un mélange méthanol/méthyléthylcétone, le point de fusion se stabilise à 196-197° et le pouvoir rotatoire monte à $[\alpha]_D^{25} = +17,5^\circ \pm 1$ (H₂O c=0,825).

Ce chlorhydrate est un mélange, l'addition d'acide perchlorique à sa solution aqueuse provoquant une cristallisation de perchlorate F (HV) 192-199° (déc.) $[\alpha]_D = -22,8^\circ$. Les bases extraites des eaux mères de ce sel fournissent, d'autre part, un chlorhydrate cristallisé F (HV) 196-198° $[\alpha]_D^{21} = +27^\circ \pm 2$ (alcool 50 % c=0,493).

C'est dans ces fractions du chromatogramme que se trouve la base « B » qui a été examinée de façon approfondie (cf. p. 42).

De l'obtention de ces deux sels à pouvoir rotatoire de sens opposé ainsi que de l'allure du deuxième chromatogramme (voir plus bas), on peut déduire que la « Fraction III » se compose d'au moins trois constituants, dont deux ont été obtenus purs (bases « A » et « B »).

Les fractions 16 à 32 n'ont pas été examinées.

Les fractions cristallisées sont réunies et représentent la base « A ». (Voir p. 39.)

II^e chromatogramme des bases III. — Un deuxième chromatogramme des bases provenant du bromhydrate III recristallisé a donné des résultats analogues.

2,31 g de bases sont dissous dans un mélange éther de pétrole/benzène 2 : 1 et chromatographiés sur une colonne de 70 g d'alumine (alcaline, activité III-IV).

Fraction	Éluant	Volume	Poids	Observations
1 à 13	Ether de pétr./benz. 2 : 1	650	565	$[\alpha]_D^{18} = -17^\circ$ (B).
14	Idem	50	30	
15	Idem	50	10	$[\alpha]_D^{17} = +6^\circ$.
16	Idem	50	20	
17	Idem	50	10	$[\alpha]_D^{17} = +8^\circ$.
18 à 19	Idem	110	50	
20	Idem	50	45	
21	Idem	50	80	$[\alpha]_D^{17} = +18^\circ$.
22	Idem	50	40	
23	Idem	50	60	$[\alpha]_D^{17} = +15^\circ$.
24	Idem	50	100	
25	Idem	50	120	$[\alpha]_D^{17} = +16^\circ$.
26 à 27	Idem	100	160	
28	Idem	50	70	$[\alpha]_D^{17} = +43^\circ$.
29 à 30	Idem	100	110	
31	Idem	50	60	$[\alpha]_D^{17} = +63^\circ$.

Fraction	Eluant	Volume	Poids	Observations
32	Idem	50	50	
33	Idem	50	40	$[\alpha]_D^{25} = + 40^\circ$.
34 à 37	Idem	200	35	Crist. F 130°.
38 à 43	Benzène	300	95	Crist. F 139°.
44 à 51	Benzène/éther 4 : 1	500	240	Crist. F 148°.
52	Éther	150	60	Part. crist.
53	Méthanol	200	40	Amorphe, coloré.

NOTE : Tous les pouvoirs rotatoires ont été déterminés dans l'alcool à 95 %.

Les fractions cristallisées (fr. 34 à 41, p. 34) du premier et du deuxième (fr. 38 à 51) chromatogramme constituent la base « A » et leur étude est décrite ultérieurement (p. 39).

Les fractions 1 à 13 du 2^e chromatogramme (p. 35), jointes aux bases provenant du perchlorate (p. 35), ont servi à l'isolement de la base « B » décrite ultérieurement (p. 42). Les fractions à pouvoir rotatoire positif ont été transformées en chlorhydrates et n'ont pas été étudiées.

Chromatogramme des bases provenant des eaux mères de la recrystallisation des bromhydrates III. — 520 mg de bases sont dissous dans un mélange éther de pétrole/benzène 2 : 1 et chromatographiés sur 17 g d'alumine (alcaline, activité III-IV).

Fraction	Eluant	Volume	Poids	Observations
4	Éther de pétr./benz. 2 : 1	25	15	Part. crist. « B ».
5 à 6	Idem	50	20	Crist. « B ».
7 à 17	Éther de pétr./benz. 1 : 1	290	125	Idem.
18 à 19	Idem	50	25	Part. crist.
20 à 23	Idem	200	45	Amorphe.
24 à 27	Benzène	100	60	Idem.
28 à 31	Idem	100	50	Crist. « A ».
32	Benzène/éther 1 : 1	75	160	Idem.
33 à 34	Idem	100	30	Amorphe.

Les fractions 4 à 17 contiennent la base « B » impure, les fractions 28 à 32 la base « A » impure.

Les fractions 18 à 27 ont été réunies, transformées en chlorhydrates et conservées comme telles.

Les fractions 33 et 34 n'ont pas été traitées.

« Fraction IV » (bisulfates).

Chromatogramme des bases de la « Fraction IV ». — 650 mg de bisulfates de la « Fraction IV » sont dissous dans l'alcool et les bases libérées par filtration sur une colonne d'alumine. On obtient 490 mg de bases amorphes.

Ces bases (490 mg) sont chromatographiées sur une colonne de 15 g d'alumine (alcaline, activité III-IV).

Fraction	Eluant	Volume	Poids	Observations	
1 à 5	Éther de pétr./benz.	1 : 1	150	40	Crist. « B ».
6 à 9	Idem		125	20	Amorphe.
10 à 13	Idem	1 : 2	100	15	Idem.
14 à 15	Idem		75	35	Crist. « A ».
16 à 19	Benzène		100	35	Idem.
20 à 23	Benzène/éther	10 : 2	150	25	Amorphe.
24 à 27	Idem	1 : 1	125	125	Amorphe, jaune.
28 à 29	Idem	1 : 2	50	tr.	Idem.
30 à 31	Éther		125	tr.	
32 à 34	Acétate d'éthyle		50	50	Crist. cassaïdine.
35 à 36	Méthanol		120	50	Amorphe, jaune orangé.

Les fractions 1 à 5 correspondent à la base « B »; les fractions 6 à 13 n'ont pas été étudiées, les fractions 14 à 19 correspondent à la base « A »; les fractions amorphes 20 à 31 n'ont pas été étudiées; les fractions éluées par l'acétate d'éthyle (fr. 32 à 34) sont transformées en chlorhydrates F (HV) 250°, $[\alpha]_D = -94^\circ \pm 3$ (H₂O). Un point de fusion mixte avec le chlorhydrate de cassaïdine a montré l'identité des deux produits.

« Fraction V. »

Chromatogramme des bases des eaux mères du bisulfate IV. — 500 mg de bases sont chromatographiés sur une colonne de 15 g d'alumine (alcaline, activité III-IV).

Fraction	Eluant	Volume	Poids	Observations	
1 à 4	Éther de pétr./benz.	1 : 1	200	35	Part. « B ».
5 à 9	Idem		250	40	Amorphe.
10 à 14	Idem	1 : 2	200	40	Idem.
15 à 18	Benzène		150	35	Idem.
19 à 20	Benzène/éther	10 : 2	100	tr.	Crist. « A ».
21 à 24	Idem		150	30	Part. « A ».
25 à 27	Méthanol		200	230	Amorphe, jaune.

Les fractions 1 à 4 sont formées de base « B » fort impure et cristallisent difficilement.

Les fractions 19 à 24 sont, de même, composées en partie de base cristallisée « A ».

Les autres fractions du chromatogramme n'ont pas été examinées.

Chromatogramme des bases provenant des eaux mères de l'oxalate IV. — Ces bases constituent la dernière fraction de bases de l'*Erythrophleum*; elles n'ont pu être transformées en aucun sel.

2,16 g de bases sont chromatographiés sur une colonne de 66 g d'alumine (alcaline, activité III-IV).

Fraction	Éluant	Volume	Poids	Observations
1 à 5	Éther de pétr./benz. 1:1	300	85	Amorphe, incolore.
6 à 11	Idem	300	220	B.HCl crist.
12	Benzène	50	120	Idem.
13 à 24	Idem	1.200	470	Amorphe.
25 à 29	Benzène/éther 5:1	250	440	B.H ₂ SO ₄ part. crist.
30 à 33	Idem	200	80	Amorphe.
34 à 39	Idem	300	190	Idem.
40 à 42	Éther	150	70	Idem.
43 à 44	Acétate d'éthyle	150	90	Idem.

Les fractions 6 à 11 sont réunies et transformées en chlorhydrates. Ces derniers, recristallisés dans l'acétone, pèsent 120 mg et possèdent un pouvoir rotatoire $[\alpha]_D = +1^\circ \pm 1,5$.

Il s'agit probablement d'un mélange semblable à celui de la « Fraction III » recristallisée. Il n'a pas été étudié.

Les autres fractions ne donnent aucun sel cristallisé.

TABLEAU III. — Rendement des diverses bases cristallisées.

	Cassaine Cassaïdine « A » « B » « C »				
	En %				
Fraction I	5,25	0,3	—	—	—
Fraction IIa	—	—	—	—	6
Fraction IIb	—	—	—	—	—
Fraction IIc	—	—	0,7	0,9	—
Fraction III	—	—	0,7	1,3	—
Fraction IV	—	0,5	0,4	0,4	—
Fraction V	—	—	0,3	0,3	—
Totaux.	5,25	0,8	2,1	2,8	6

Au total, environ 17 % des bases totales de l'*Erythrophleum* pourraient être séparés par le fractionnement utilisé sous forme cristallisée.

2. ÉTUDE DES ALCALOÏDES « A » ET « B ».

Alcaloïde « A ». — La base homogène obtenue par réunion des fractions cristallisées des chromatogrammes des bases III (voir p. 36) est recristallisée dans l'éther/éther de pétrole. On obtient de cette façon l'alcaloïde « A » à l'état pur F 149-151°. Le rendement en produit brut de la « Fraction III » représente environ 1 % des bases totales.

Pour l'analyse, le produit a été séché sous haut-vide à 50° pendant 48 h.

3,712, 3,699 mg de subst. fournissent 9,073, 9,051 mg CO₂ et 2,867, 2,910 mg H₂O.

4,212, 5,078 de subst. fournissent 0,118 (19°,712 mm) et 0,145 (18°,736 mm) cm³ N₂.

3,290 mg de subst. utilisent 2,265 cm³ Na₂S₂O₃ N/50.

C₂₅H₃₉O₆N calculé C 66,78 H 8,75 N 3,12 OCH₃ 6,90.
trouvé C 66,72, 66,77 H 8,65, 8,83 N 3,07, 3,24 OCH₃ 7,12.

$[\alpha]_D^{20} = -62.5 \pm 2$ (alcool 95 % c=0,911).

Cette formule répond à la formule de l'alcaloïde « A » isolé par RUZICKA, PLATTNER et ENGEL des eaux mères de la coumingine (26). Un point de fusion mixte a montré l'identité des deux bases.

Picrate « A ». — 20 mg de bases sont dissous dans 2 cm³ d'alcool et additionnés de 0,3 cm³ de solution aqueuse d'acide picrique. On ajoute de l'eau jusqu'à trouble de la solution (3 cm³). Après une nuit, des cristaux se sont séparés en fines aiguilles jaune d'or. Après deux recristallisations, le picrate « A » fond à 184-187° (HV) (déc.).

Pour l'analyse, le produit est séché sous haut-vide pendant 72 h à température ambiante.

3,740 mg de subst. fournissent 7,524 mg CO₂ et 2,088 mg H₂O.

3,090 mg de subst. fournissent 0,231 cm³ N₂ (19°,721 mm).

C₂₅H₃₉O₆N.C₆H₃O₇N₃ calculé C 54,86 H 6,24 N 8,26.
trouvé C 54,81 H 6,24 N 8,29.

Dérivé acétylé de « A ». — 60 mg de bases sont dissous dans 2 cm³ de pyridine et laissés en contact avec 2 cm³ d'anhydride acétique pendant 1 h au bain-marie, puis pendant 16 h à température ambiante. On détruit l'excès d'anhydride par plusieurs évaporations à sec de petites quantités de méthanol.

Le résidu est repris à l'éther et la solution étherée est lavée à NaOH diluée, puis à l'eau. Les bases sont extraites par HCl dilué, la solution aqueuse fortement alcalinisée et les bases extraites à l'éther. Après dessiccation suivant l'évaporation de l'éther, on obtient 40 mg de bases amorphes.

Toutes tentatives d'obtenir un produit cristallisé ont échoué.

Hydrolyse acide de « A » : Acide « A ». — 82,5 mg de bases pures sont dissous dans 2 cm³ d'HCl dilué et la solution est portée à l'ébullition. Après 5 min la solution se trouble et des cristaux se forment. Après une heure de chauffe sous reflux, et refroidissement, on filtre 55,7 mg de paillettes incolores.

Les eaux mères sont chauffées à reflux pendant une seconde heure, ce qui permet de séparer 9,4 mg de cristaux légèrement jaunâtres. L'extraction des dernières eaux mères par agitation à l'acétate d'éthyle ne fournit plus que des traces de produits amorphes. Le rendement est d'environ 95 %.

Les fractions cristallisées sont réunies et recristallisées deux fois dans l'acétone/eau. F (HV) 218-220° (déc.).

Pour l'analyse, le produit est séché sous haut-vide à 75° pendant 60 h.

3,592 mg de subst. fournissent 8,759 mg CO₂ et 2,566 mg H₂O.

3,970 mg de subst. utilisent 3,264 cm³ Na₂S₂O₃ N/50.

C ₂₁ H ₃₀ O ₆	calculé	C 66,64	H 7,99	OCH ₃ 8,20.
	trouvé	C 66,55	H 7,99	OCH ₃ 8,50.

$[\alpha]_D^{20} = -63^{\circ} \pm 2$ (alcool 95 % c=0,72).

β-diméthylaminoéthanol. — Les eaux mères chlorhydriques de l'acide sont évaporées à sec sous pression réduite et le résidu est séché dans un dessiccateur évacué sur KOH. Il se forme sur les parois du ballon un enduit cristallin, en longues aiguilles, fortement hygroscopique, de chlorhydrate de β-diméthylaminoéthanol (29 mg).

Ce résidu est dissous dans un peu d'eau et additionné d'une solution de chlorure d'or. Par évaporation lente de la solution, il se forme de longues aiguilles jaunes fondant après plusieurs recristallisations dans l'eau à 187-189°. Ce point de fusion correspond à celui du chloraurate du β-diméthylaminoéthanol.

Ester méthylique de l'acide « A ». — 270 mg d'acide « A » sont dissous dans un minimum de méthanol et la solution ainsi obtenue diluée à l'éther. On y ajoute une solution étherée de diazométhane. Après ½ h de contact, la solution est évaporée à sec sous pression réduite; le résidu est repris par l'éther frais et cette nouvelle solution est lavée successivement à l'HCl dilué, au carbonate de soude dilué, puis à l'eau. Séchée sur sulfate de soude anhydre et évaporée à sec, la solution laisse un résidu de 250 mg d'ester méthylique brut.

Ce produit, amorphe, est purifié par chromatographie : par élution au mélange éther de pétrole/benzène 1:2, on obtient des fractions cristallines F 160°.

Après plusieurs recristallisations dans l'éther, le point de fusion se stabilise à 177-179°.

Pour l'analyse, le produit est sublimé sous haut-vide à 150° (0,02 mm). Le point de fusion reste inchangé.

3,640 mg de subst. fournissent 8,978 mg CO₂ et 2,695 mg H₂O.

C ₂₂ H ₃₂ O ₆	calculé	C 67,32	H 8,22.
	trouvé	C 67,31	H 8,29.

$[\alpha]_D^{25} = -65^\circ \pm 2$ (alcool 95 % c=1,17).

Acétate de l'ester méthylique de l'acide « A ». — 30 mg d'ester sont dissous dans 0,5 cm³ de pyridine et traités par 0,2 cm³ d'anhydride acétique. On laisse en contact pendant 48 h à température ambiante. On élimine l'excès d'anhydride acétique par évaporations répétées de petites quantités de méthanol. Le résidu est dissous dans l'éther, lavé à HCl dilué, puis au carbonate de soude dilué. La solution étherée est séchée et évaporée à sec. L'acétate obtenu fond à 167-168° et pèse 20 mg.

Après deux recristallisations dans l'éther de pétrole, le point de fusion se stabilise à 173°.

Pour l'analyse, le produit est sublimé dans le haut-vide à 140°. Le point de fusion n'est pas modifié.

3,788 mg de subst. fournissent 9,220 mg CO₂ et 2,664 mg H₂O.

C ₂₄ H ₃₄ O ₇	calculé	C 66,34	H 7,89.
	trouvé	C 66,43	H 7,87.

$[\alpha]_D^{25} = -59^\circ \pm 4$ (alcool 95 % c=0,466).

Première oximation de l'ester méthylique « A ». — 20 mg d'ester sont dissous dans 2 cm³ de méthanol et traités par une solution d'acétate d'hydroxylamine (40 mg NH₂OH.HCl + 60 mg acétate de sodium) dans 4 cm³ de méthanol. On chauffe à reflux pendant 4 h. On évapore partiellement le méthanol; par addition d'eau on obtient un précipité amorphe.

La solution contenant le précipité est extraite 3 fois à l'éther, la solution étherée est lavée, séchée et évaporée à sec. On obtient un résidu partiellement cristallisé. Les cristaux sont difficilement solubles dans l'éther; ils sont séparés et recristallisés dans le chloroforme/éther, puis dans le chlorure de méthylène/éther. Le point de fusion se stabilise à 228-229° (déc.). Le produit est légèrement alcalin et ne donne aucune réaction avec le chlorure de fer.

Pour l'analyse, le produit est séché sous haut-vide à 70° pendant 48 h.

2,466 mg de subst. fournissent 0,159 cm³ N₂ (18°, 728 mm).

C ₂₂ H ₃₄ O ₆ N ₂	dioxime	calculé	N 6,63.
	oxazolone	(?)	N 7,25.
C ₂₁ H ₃₀ O ₅ N ₂		trouvé	N 7,19.

Monoxime de l'ester méthylique « A ». — 30 mg d'ester sont traités comme précédemment. La solution méthanolique est chauffée à reflux pendant 4 h. Après refroidissement et addition d'eau, on extrait au chloroforme, puis à l'éther. Le solvant, séché puis évaporé, laisse un résidu cristallisé F 179-180°.

On recristallise dans l'alcool/eau et l'on sèche sous haut-vide à température ordinaire F 182-184°.

3,819 mg de subst. fournissent 9,062 mg CO₂ et 2,794 mg H₂O.
 3,585 mg de subst. fournissent 0,114 cm³ N₂ (21°, 735 mm).
 $C_{22}H_{33}O_6N$ calculé C 64,74 H 8,16 N 3,44.
 trouvé C 64,75 H 8,18 N 3,58.

Alcaloïde « B ». *Isolement.* — Les bases obtenues des fractions 3 à 15 du deuxième chromatogramme des bases III, jointes aux bases obtenues du perchlorate (voir p. 35), sont réunies. Au total 770 mg de bases sont rechromatographiées sur une colonne de 30 g d'alumine (alcaline, activité III-IV).

Fraction	Éluant	Volume	Poids	Observations
1 à 10	Ether de pétrole	500	—	—
11 à 22	Ether de pétr./benz. 8 : 2	700	145	Amorphe $[\alpha]_D^{20} = - 50$.
23 à 28	Idem 7 : 3	250	60	Idem.
29 à 34	Idem 2 : 1	450	85	Amorphe $[\alpha]_D^{20} = - 55$.
35 à 43	Idem 1 : 1	570	135	Idem.
44 à 47	Idem 1 : 2	200	45	$[\alpha]_D^{20} = - 49$.
48 à 55	Benzène	680	145	$[\alpha]_D = - 20$.
56	Ether	100	30	$[\alpha]_D = + 24$.
57	Méthanol	100	30	Amorphe, jaune orangé.

NOTE : Tous les pouvoirs rotatoires ont été déterminés dans l'alcool à 95 %.

Alcaloïde « B ». — Les fractions 11 à 47 sont réunies, les bases cristallisent lentement au repos. F 76-80°.

Après plusieurs recristallisations dans le pentane, le point de fusion se stabilise à 86-87°.

Pour l'analyse, le produit est séché sous haut-vide à température ambiante pendant 48 h.

3,614 mg de subst. fournissent 9,176 mg CO₂ et 3,006 mg H₂O.
 3,240 mg de subst. fournissent 0,167 cm³ N₂ (20°, 730 mm).
 4,460 mg de subst. utilisent 3,123 cm³ Na₂S₂O₃ N/50.
 $C_{25}H_{39}O_5N$ calculé C 69,25 H 9,07 N 3,23 OCH₃ 7,16.
 trouvé C 69,29 H 9,31 N 3,57 OCH₃ 7,24.
 $[\alpha]_D^{19} = -56^\circ \pm 2$ (alcool 95 % c=0,84).

Perchlorate « B ». — 80 mg de bases sont dissous dans 2 cm³ d'acétone, la solution est acidifiée par HCl dilué et portée à 10 cm³

avec de l'eau distillée. On traite la solution acide par 1 cm³ d'acide perchlorique 70 %. La solution se trouble et laisse se déposer de beaux cristaux en aiguilles.

Le perchlorate est recristallisé dans l'acétone/eau jusqu'à constance du point de fusion F (HV) 200° (ramollissement) — 210° (déc.).

Pour l'analyse, le produit est séché sous haut-vide à 55° pendant 48 h.

3,644 mg de subst. fournissent 7,469 mg CO₂ et 2,421 mg H₂O.

4,547 mg de subst. fournissent 0,113 cm³ N₂ (20°, 730 mm).

6,192 mg de subst. fournissent 1,714 mg AgCl.

C₂₅H₃₉O₅.N.HClO₄ calculé C 56,22 H 7,55 N 2,62 Cl 6,64.

trouvé C 55,94 H 7,43 N 2,78 Cl 6,85

$[\alpha]_D^{20} = -50^\circ \pm 3$ (alcool 50 % c=0,59).

Bisulfate « B ». — 80 mg de bases sont dissous dans 2 cm³ d'acétone et traités par une solution acétonique à 5 % d'H₂SO₄ jusqu'à réaction acide. On ajoute à la solution 2 cm³ d'éther provoquant un dépôt cristallin en rosettes.

Pour l'analyse, le bisulfate est recristallisé jusqu'à constance de point de fusion dans un mélange alcool 95 %/éther, puis est séché sous haut-vide à 55° pendant 72 h. F (HV) 191-194°.

3,516 mg de subst. fournissent 7,255 mg CO₂ et 2,461 mg H₂O.

5,938 mg de subst. fournissent 0,139 cm³ N₂ (17°, 730 mm).

C₂₅H₃₉O₅.N.H₂SO₄ calculé C 56,48 H 7,77 N 2,63

trouvé C 56,31 H 7,83 N 2,65.

$[\alpha]_D^{17} = -49^{\circ}5 \pm 2$ (H₂O c=0,47).

Chlorhydrate « B ». — 30 mg de bases sont dissous dans 1 cm³ d'acétone et traités par une solution étherée d'HCl. Par addition de 1 cm³ d'éther, il se forme immédiatement un précipité cristallin fondant entre 205 et 214°. Il est recristallisé deux fois dans l'acétone.

Pour l'analyse, le chlorhydrate est séché sous haut-vide à 55° pendant 48 h. F (HV) 214-217° (déc.).

3,544 mg de subst. fournissent 8,292 mg CO₂ et 2,693 mg H₂O.

2,693 mg de subst. fournissent 0,137 cm³ N₂ (17°, 730 mm).

C₂₅H₃₉O₅.N.HCl calculé C 63,88 H 8,58 N 2,98.

trouvé C 63,86 H 8,50 N 2,98.

$[\alpha]_D^{17} = -48^\circ \pm 2$ (H₂O c=0,65).

Picrate « B ». — Le picrate de la base « B », précipité de sa solution acétonique par l'eau, est amorphe.

Hydrolyse acide de la base « B ». Acide « B ». — 168 mg de bases sont dissous dans 2,5 cm³ d'HCl 2N et chauffés à l'ébulli-

tion sous reflux. Après 15 min la solution se trouble et des cristaux se forment. Après 1 h, on filtre 73,6 mg d'acide « B » cristallisé en paillettes. Après une ébullition ultérieure de 3 $\frac{1}{2}$ h, on recueille une deuxième fraction moins pure pesant 40,2 mg. Par extraction des eaux mères à l'acétate d'éthyle, on n'obtient plus que des traces de produits amorphes.

On recueille au total 110 mg de produit cristallisé, soit plus de 90 % de la théorie.

Les fractions cristallines sont réunies et recristallisées deux fois dans l'acétone/eau.

Pour l'analyse, le produit est séché sous haut-vide à 75° pendant 48 h. F (HV) 217-219°.

3,660 mg de subst. fournissent 9,332 mg CO₂ et 2,732 mg H₂O.

3,095 mg de subst. utilisent 2,620 ml Na₂S₂O₃ N/50.

C₂₁H₃₀O₅ calculé C 69,58 H 8,34 OCH₃ 8,56.

trouvé C 69,58 H 8,35 OCH₃ 8,75.

$[\alpha]_D^{20} = -62^\circ \pm 2$ (alcool 95 % c=0,48).

β-diméthylaminoéthanol. — La solution acide provenant de l'hydrolyse est évaporée à sec sous pression réduite. Le résidu est séché dans un dessiccateur évacué sur KOH. Chlorhydrate de β-diméthylaminoéthanol : 39,2 mg.

Ce résidu est dissous dans 1 cm³ d'eau et traité par un excès de chlorure d'or en solution dans 1 cm³ d'eau.

Par évaporation lente de la solution, il se forme de longues aiguilles de chloraurate. Les cristaux sont essorés et recristallisés deux fois dans l'eau.

Pour l'analyse, le produit est séché sous haut-vide à température ambiante pendant 48 h. F 189°.

3,804 mg de subst. fournissent 1,533 mg CO₂, 0,983 mg H₂O et 1,742 mg Au.

C₄H₁₁ON.HCl.AuCl₃ calculé C 11,19 H 2,82 Au 45,95.

trouvé C 11,00 H 2,89 Au 45,79.

Ester de p-phénylphénacyle de l'acide « B ». — 45,35 mg d'acide « B » sont dissous dans 3 cm³ d'alcool et titrés par NaOH 0,1N en présence de phénolphtaléine.

NaOH utilisé : 1,264 cm³.

C₂₁H₃₀O₅ équivalent moléculaire calculé 362,45.

trouvé 358,8.

A la solution neutre, on ajoute 36,5 mg (1,1 Mol) de bromure de p-phénylphénacyle et l'on maintient à l'ébullition sous reflux pendant 1 h.

Après refroidissement, on filtre les cristaux formés : 60 mg F 120°.

Après deux recristallisations dans l'alcool, le point de fusion se stabilise à 127-130°.

Pour l'analyse, le produit est séché sous haut-vide à 50° pendant 24 h. Ce produit contient $\frac{1}{2}$ molécule d'alcool de cristallisation.

3,858 mg de subst. perdent 0,142 mg à la fusion.
 3,716 mg de subst. fondues fournissent 10,279 mg CO₂ et 2,420 mg H₂O.
 $C_{35}H_{40}O_6$ calculé C 75,10 H 7,24 $\frac{1}{2} C_2H_5OH$ 3,97.
 trouvé C 75,49 H 7,29 $\frac{1}{2} C_2H_5OH$ 3,69.
 $[\alpha]_D^{25} = -58^\circ \pm 2$ (c = 0,791 CHCl₃).

Ester méthylique de l'acide « B ». — 50 mg d'acide sont dissous dans 10 cm³ d'éther et traités par une solution étherée de diazométhane. Après un contact de $\frac{1}{2}$ h, l'éther est évaporé sous pression réduite. Le résidu, repris par de l'éther frais, est lavé successivement par du carbonate de soude dilué, de l'HCl dilué, puis de l'eau. La solution est séchée et évaporée à sec. Ester amorphe 55 mg.

Pour l'analyse, l'ester méthylique a été distillé trois fois sous haut-vide (Éb 140° 0,01 mm). Le distillat solide, mais toujours amorphe, a un point de ramollissement entre 60 et 65°.

3,746, 3,774 mg de subst. fournissent 9,631, 9,700 mg CO₂ et 2,870, 2,893 mg H₂O.
 $C_{22}H_{32}O_5$ calculé C 70,18 H 8,57.
 trouvé C 70,16, 70,14 H 8,57, 8,58.
 $[\alpha]_D^{25} = -60^\circ \pm 2$ (alcool 95 % c = 0,486).

Mono-2-4-dinitrophénylhydrazone de l'ester « B ». — 50 mg d'ester méthylique sont dissous dans 3 cm³ de méthanol. A la solution est ajoutée une solution de 50 mg de 2,4-dinitrophénylhydrazine dans 3 cm³ de méthanol et 0,1 cm³ de H₂SO₄ concentré. La liqueur est portée à l'ébullition et y est maintenue jusqu'à apparition des premiers cristaux. On laisse refroidir et l'on filtre 50 mg de cristaux soyeux rouge orange. F 217-218°.

Après trois recristallisations dans un mélange acétate d'éthyle/méthanol, le point de fusion se stabilise à 227-228°.

Pour l'analyse, le produit est séché sous haut-vide à 70° pendant 48 h.

3,814 mg de subst. fournissent 8,303 mg CO₂ et 2,236 mg H₂O.
 3,104 mg de subst. fournissent 0,283 cm³ N₂ (21°, 728 mm).
 $C_{27}H_{36}O_8N_4$ calculé C 59,54 H 6,66 N 10,29
 trouvé C 59,42 H 6,56 N 10,14.

Monoxime de l'ester méthylique « B ». — 50 mg d'ester méthylique sont dissous dans 4 cm³ de méthanol; on ajoute à cette solution

une solution d'acétate d'hydroxylamine (100 mg $\text{NH}_2\text{OH.HCl}$ + 150 mg acétate de Na) dans 6 cm³ de méthanol.

Le mélange est chauffé à l'ébullition pendant 15 min, puis laissé à refroidir. Après addition d'eau, il se forme un précipité cristallin. F 85-90°.

Par recristallisation dans un mélange méthanol/eau, le point de fusion s'élève à 96-98°. Après une recristallisation dans l'éther/éther de pétrole, il monte à 109-110°, mais reprend sa valeur initiale de 96-98°, après une nouvelle recristallisation dans le méthanol/eau.

Pour l'analyse, le produit F 96-98° est séché sous haut-vide à température ambiante pendant 72 h.

3,712 mg de subst. fournissent 9,033 mg CO_2 et 2,917 mg H_2O .

$\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{O}_5\text{N} \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ calculé C 65,97 H 8,56.
trouvé C 66,41 H 8,79.

3,588 mg de subst. perdent 0,104 mg à la fusion.

3,484 mg de subst. fondues fournissent 8,612 mg CO_2 et 2,669 mg H_2O .

$\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{O}_5\text{N}$ calculé C 67,49 H 8,57.
trouvé C 67,47 H 8,58.

$\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ calculé 2,25 %.
trouvé 2,90 %.

3. EXAMEN D'ÉCORCES D'ERYTHROPHLEUM DE DIVERSES PROVENANCES.

A. *Erythrophleum africanum*. — L'échantillon de cette espèce provenait de la région d'Elisabethville (Katanga).

700 g d'écorces ont été traités comme il a été décrit au début de la partie expérimentale (p. 23).

On obtient de cette façon 50 mg de bases amorphes, soit un rendement de 0,007 % du poids des écorces.

B. *Erythrophleum guineense* (provenance Elisabethville). — L'échantillon est constitué d'écorces très jeunes n'atteignant pas 4 mm d'épaisseur. Ces écorces contiennent des quantités très importantes de chlorophylle, gênant considérablement l'extraction des bases.

5 kg d'écorces sont traités par la méthode habituelle. On obtient 9,32 g de bases, soit un rendement de 0,18 %.

Les bases sont fractionnées suivant le schéma utilisé précédemment pour le traitement du lot provenant de Yangambi. (Voir pp. 23 et suiv.) On obtient de cette façon :

Fraction I bisulfates	...	0.
Fraction IIa oxalates	...	0.
Fraction IIb' oxalates insol. acétone	...	610 mg.
Fraction IIc' oxalates insol. acétate d'éthyle	...	220 mg.
Fraction III bromhydrates	..	250 mg.

C. *Erythrophleum guineense* (provenance Kivu). — Traités comme précédemment, 800 g d'écorces fournissent 1,5 g de bases, soit 0,19 % du poids des écorces. Le fractionnement précédent fournit :

Fraction I bisulfates	80 mg.
Fraction IIa oxalates	80 mg.
Fraction IIb' oxalates insol. acétone	320 mg.
Fraction IIc' oxalates insol. acétate d'éthyle	140 mg.

D. *Erythrophleum guineense* (provenance Bas-Congo). — 1 kg de ces écorces traité comme précédemment a fourni 450 mg de bases, soit un rendement de 0,045 %. Vu cette faible teneur, nous n'avons pas fait de fractionnement.

Essai d'extraction continue. — 200 g d'écorces d'*Erythrophleum* provenant de Yangambi sont finement broyés et traités par 100 cm³ de solution à 10 % de carbonate de soude. La poudre est alors extraite à l'éther de pétrole, dans un appareil « Soxhlet », pendant 2 h. La solution traitée par la méthode usuelle d'extraction ne fournit que 50 mg de bases amorphes.

Le résidu d'extraction à l'éther de pétrole est alors traité dans le même appareil, pendant 5 h, à l'éther. De la solution éthérée, on extrait 450 mg de bases amorphes.

Dans le ballon d'extraction se sépare un résidu insoluble dans l'éther. On obtient 390 mg de bases.

Le rendement total est donc de 890 mg de bases, soit 0,445 % du poids des écorces.

4. ESSAIS DE PRÉPARATION DE L'ACIDE CASSÉNIQUE.

Acide dioxycassénique (acide cassaidinique). — 500 mg de chlorhydrate de cassaidine sont chauffés sous reflux avec 10 cm³ d'HCl 2 N pendant 2 h. Après refroidissement de 3 h en glacière, on filtre les cristaux formés, essore, lave à l'eau et sèche. On obtient 320 mg d'acide F 273-275°. Les eaux mères extraites à l'acétate d'éthyle fournissent 30 mg de produit amorphe. Soit un rendement total de 350 mg ou 93 % de la théorie.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -94^{\circ} \pm 2 \text{ (alcool 95 \% } c=1) \text{ [DALMA (20), F 275-277}^{\circ}, \\ [\alpha]_{\text{D}}^{20} = -100^{\circ} \pm 1 \text{ (alcool 95 \% } c=1)].$$

Acide dicétocassénique (acide bisdéhydrocassaidinique). — 300 mg d'acide dioxycassénique sont dissous dans 10 cm³ d'acide acétique glacial et traités par 1,5 cm³ de CrO₃ 2,46 N en solution acétique (1 équiv.). Après 10 min à 45°, on laisse refroidir à température ambiante et l'on ajoute 0,8 cm³ (0,5 équiv.) d'acide chromique. Après

une nuit de contact, on dilue avec 130 cm³ d'eau; un précipité cristallin se forme immédiatement. Après quelques heures en glacière, on filtre, lave à l'eau, sèche et pèse. On obtient 180 mg d'acide dicétocassénique F 235°.

$$[\alpha]_D^{21} = -131^\circ \text{ (alcool 95 \% } c=1,04).$$

Après plusieurs recristallisations, dans le méthanol ou l'acétone, le point de fusion se stabilise à 251-252° (HV).

$$[\alpha]_D^{20} = -149^{\circ 5} \pm 4 \text{ (alcool 95 \% } c=0,47 \text{ [DALMA (20), } [\alpha]_D^{21} = -146^\circ; \text{ SCOTT (28), } [\alpha]_D = -152^\circ].$$

Bisdéhydrocassaidine. — 1 g de chlorhydrate de cassaidine est traité en deux portions de 500 mg de la façon suivante : 500 mg sont dissous dans 5 cm³ d'acide acétique glacial et traités par 3,5 cm³ de CrO₃ 3 N en solution acétique.

Après 3 h de contact à 50°, on laisse pendant 18 h à la température ambiante.

On réunit les deux portions, on alcalinise fortement par NaOH dilué en présence de glace; les bases libérées sont extraites par trois agitations à l'éther. Bases amorphes 590 mg. Par traitement avec un peu d'éther et beaucoup d'éther de pétrole les bases cristallisent lentement. On recristallise plusieurs fois dans l'éther/éther de pétrole et l'on sèche le produit pour l'analyse sous haut-vide à 50° pendant 48 h. F 110-112°.

4,022 mg de subst. fournissent 10,522 mg CO₂ et 3,353 mg H₂O.

5,100 mg de subst. fournissent 0,161 cm³ N₂ (17°,730 mm).

C ₂₄ H ₃₇ O ₄ N	calculé	C 71,43	H 9,26	N 3,47.
	trouvé	C 71,39	H 9,33	N 3,57.

$$[\alpha]_D = -130^\circ \pm 1,5 \text{ (alcool 95 \% } c=1,117).$$

Oxalate de bisdéhydrocassaidine. — 590 mg de bisdéhydrocassaidine sont dissous dans un mélange de 3 cm³ de méthanol et 30 cm³ (soit, en volume, 5 $\frac{1}{2}$ fois le poids de base) d'acétone et additionnés de 4 cm³ de solution acétonique à 5 % d'acide oxalique. Après deux recristallisations dans l'acétone, le point de fusion se stabilise à 205-206° (HV).

Pour l'analyse, le produit est séché sous haut-vide à 60° pendant 48 h.

3,687 mg de subst. fournissent 8,555 mg CO₂ et 2,662 mg H₂O.

5,221 mg de subst. fournissent 0,129 cm³ N₂.

C ₂₄ H ₃₇ O ₄ N.C ₂ H ₂ O ₄	calculé	C 63,26	H 7,96	N 2,84.
	trouvé	63,32	H 8,08	N 2,73.

$$[\alpha]_D^{20} = -115^\circ \pm 2 \text{ (H}_2\text{O } c=0,987).$$

Bisulfate de bisdéhdrocassaïdine. — Des eaux mères de recristallisation de l'oxalate, on extrait les bases que l'on dissout dans l'acétone et que l'on traite par une solution acétonique d'H₂SO₄. On ajoute de l'éther jusqu'à trouble. Au repos, il se forme un précipité cristallin qui est recristallisé 2 fois dans l'acétone/éther. F 211-213° (HV, déc.).

Pour l'analyse, le produit est séché sous haut-vide à 60° pendant 48 h.

4,057 mg de subst. fournissent	8,532 mg CO ₂	et	2,866 mg H ₂ O.
C ₂₄ H ₃₇ O ₄ N.H ₂ SO ₄	calculé	C 57,46	H 7,84.
	trouvé	C 57,39	H 7,90.

Acide dicétocassénique. — 1 g d'oxalate de bisdéhdrocassaïdine est chauffé sous reflux pendant une heure avec 20 cm³ d'HCl 2 N. On filtre 510 mg de cristaux. Le produit obtenu après un chauffage ultérieur de 1 h pèse 50 mg et est constitué de cristaux légèrement colorés. L'extraction des eaux mères à l'acétate d'éthyle ne fournit plus que 30 mg de produit amorphe. La première fraction de 510 mg est constituée par un produit déjà très pur F 251° (HV, déc.).

$$[\alpha]_D^{25} = -151^{\circ} \text{ (alcool 95 \% } c=0,54).$$

Réduction de l'acide dicétocassénique d'après WOLFF-KISHNER.

1. 670 mg d'acide dicétocassénique sont chauffés à reflux avec 1,95 g d'hydrate d'hydrazine dans 10 cm³ d'alcool pendant 3 $\frac{1}{2}$ h. D'autre part, 1,2 g de sodium sont dissous dans 20 cm³ d'alcool.

Les deux solutions sont réunies et chauffées pendant 16 h en tube scellé à 180°.

Après complet refroidissement, la solution est reprise à l'eau, l'alcool évaporé sous pression réduite, et la solution rendue fortement acide par HCl 2 N. La solution acide est extraite par 3 agitations à l'éther. Acides : 370 mg.

Préparation de l'ester méthylique et chromatogramme. — Les 370 mg d'acides amorphes ainsi obtenus sont immédiatement traités par une solution étherée de diazométhane. Après évaporation de l'éther, le résidu est repris par de l'éther frais, la nouvelle solution étherée est lavée à l'acide dilué, au carbonate de soude dilué, puis à l'eau. Après avoir été séché sur sulfate de soude anhydre, la solution étherée est évaporée à sec. On obtient 320 mg d'esters méthyliques.

Ces esters sont chromatographiés sur une colonne de 10 g d'alumine (alcaline, activité III-IV).

Fraction	Eluant	Volume	Poids	Observations	
1 à 5	Ether de pétr./benz.	10 : 1	50	115	Fr 3 $[\alpha]_D = -31^\circ$. Fr 5 $[\alpha]_D = -19^\circ$.
7 à 11	Idem		70	40	Fr 7 $[\alpha]_D = +20^\circ$. Fr 9 $[\alpha]_D = +38^\circ$.
12 à 14	Idem	4 : 1	60	5	
15 à 17	Benzène		50	10	
18	Èther		100	30	

Les fractions 3 à 5 (90 mg) sont réunies et distillées dans le haut-vide (120° 0,01 mm).

Les fractions 7 à 11 sont réunies et distillées deux fois sous haut-
vide (120°, 0,01 mm) et données à l'analyse.

3,798 mg de subst. fournissent 11,017 mg CO₂ et 3,61 mg H₂O.

C₂₁H₃₄O₂ calculé C 79,19 H 10,76.
trouvé C 79,16 H 10,64.

$[\alpha]_D^{21} = +21^\circ \pm 2$ (alcool 95 % c=0,44).

2. 880 mg d'acide dicétocassénique sont dissous dans 12 cm³ d'alcool et chauffés pendant 2 h à reflux avec 0,5 g d'hydrate d'hydrazine. D'autre part, 1,6 g de sodium sont dissous dans 20 cm³ d'alcool.

Les deux solutions sont réunies et chauffées en tube scellé pendant 18 h à 180°.

Après refroidissement, on reprend par l'eau et évapore l'alcool sous pression réduite. La solution est acidifiée par HCl 2 N et les acides extraits par agitation à l'éther. On obtient par évaporation 630 mg d'acides.

Les solutions aqueuses extraites laissent, au repos, cristalliser 120 mg de produit en longues aiguilles soyeuses. F (HV) 176-178°.

Pour l'analyse, ce dernier est sublimé sous haut-
vide à 140°. F (HV) 185-186°.

3,820 mg de subst. fournissent 10,497 mg CO₂ et 3,239 mg H₂O.

C₂₀H₃₂O₂ calculé C 78,90 H 10,59.

C₂₀H₃₀O₃ calculé C 75,43 H 9,50.

trouvé C 74,99 H 9,49.

$[\alpha]_D^{21} = +81^\circ \pm 2$ (alcool 95 % c=0,7).

Le produit isolé correspond plutôt à un acide monooxycassénique.

Le résidu de l'extraction à l'éther de 630 mg est repris par l'éther, laissant un petit résidu cristallisé difficilement soluble dans ce solvant. Ces cristaux, après recristallisation dans l'acétate d'éthyle, fournissent 40 mg d'un produit fondant à 236-237° (HV).

Pour l'analyse, le produit est séché sous haut-vide pendant 72 h à 70°.

3,751 mg de subst. fournissent 10,245 mg CO₂ et 3,415 mg H₂O.

C₂₀H₃₂O₂ calculé C 78,90 H 10,59.

C₂₀H₃₀O₃ calculé C 75,43 H 9,50.

trouvé C 74,53 H 10,19.

L'analyse répétée après sublimation sous haut-vide à 140° fournit des résultats semblables.

$$[\alpha]_D^{25} = +78^\circ \pm 4 \text{ (alcool 95 \% } c=0,37\text{)}.$$

Les analyses ont été effectuées par le laboratoire de micro-analyse de l'E.P.F. sous la direction de M. W. MANSER.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.

1. S. BERNSTEIN et L. DORFMANN, *Am. Soc.*, LXVIII, 1152 (1946).
- 1a. K. BERSE, *Dissertation*, E.P.F. (1946).
2. C. O. BJÖRLING, *A. Chem. Scand.*, I, 4, 392 (1947).
3. B. K. BLOUNT, H. T. OPENSHAW et A. R. TODD, *Soc.*, p. 286 (1940).
4. L. C. CRAIG, *J. biol. Ch.*, CLV, 519 (1944); CLXI, 321 (1945).
5. W. CYRIL et C. MAPLETHORPE, *Pharm. J.*, CXI, 85 (1923).
6. G. DALMA, *Ann. Chim. Applicata*, XXV, 569 (1935).
7. G. DALMA, *Helv.*, XXII, 1947 (1939).
8. J. M. DALZIEL, *The useful plants of West Tropical Africa*, p. 192, Londres (1947).
9. B. G. ENGEL, *Dissertation*, E.P.F. (1945).
10. F. FALTIS et L. HOLZINGER, *Ber.*, LXXII, 1443 (1939).
11. N. GALLOIS et E. HARDY, *C.R.*, LXXX, 1221 (1875); *J. Pharm. chim.*, XXIV, 25 (1876).
12. E. HARNACK, *Arch. Pharm.*, CCXXXIV, 561 (1896).
13. E. HARNACK et R. ZABROCKY, *Arch. exptl. Path. Pharmacol.*, XV, 404 (1882).
14. H. HAUPTMANN, *Am. Soc.*, LXIX, 562 (1947).
15. J. R. HOSKING, *Ber.*, LXIX, 780 (1936).
16. B. POWER et A. SALVAY, *Am. J. Pharm.*, LXXXIV, 333 (1912).
17. M. RIGAL, *Les Erythrophleum de l'Afrique occidentale*, Paris (1941).
18. A. RONCO, *Dissertation*, E.P.F. (1945).
19. L. RUZICKA et G. DALMA, *Helv.*, XXII, 1516 (1939).
20. L. RUZICKA et G. DALMA, *Helv.*, XXIII, 753 (1940).
21. L. RUZICKA, G. DALMA, B. G. ENGEL et W. E. SCOTT, *Helv.*, XXIV, 449 (1941).
22. L. RUZICKA, G. DALMA et W. E. SCOTT, *Helv.*, XXIV, 63 (1941).
- 22a. L. RUZICKA, G. DALMA et W. E. SCOTT, *Helv.*, XXIV, 179 E (1941).
23. L. RUZICKA et L. EHMANN, *Helv.*, XV, 144 (1933).
24. L. RUZICKA, L. EHMANN et E. MÖRGELI, *Helv.*, XVI, 314 (1934).
25. L. RUZICKA, B. G. ENGEL, A. RONCO et K. BERSE, *Helv.*, XXVIII, 1038 (1945).
26. L. RUZICKA, PL. A. PLATTNER et B. G. ENGEL, *Exper.*, I, 160 (1945).
27. E. SCHLITTLER, *Helv.*, XXIV, 319 E (1941).
28. W. E. SCOTT, *Dissertation*, E.P.F., (1941).
29. H. WIELAND, O. SCHLICHTING et R. JACOBY, *Z. physiol. Ch.*, CLXI, 80 (1926).
— Cf. PH. BARBIER et R. LOCQUIN, *C.R.*, CLVI, 1443 (1913).
30. M. L. WOLFROM et J. V. KARABINOS, *Am. Soc.*, LXVI, 909 (1944).

Publications de l'INÉAC

Les publications de l'INÉAC peuvent être échangées contre des publications similaires et des périodiques émanant des Institutions belges ou étrangères. **S'adresser : 12, rue aux Laines, à Bruxelles.** Elles peuvent être obtenues moyennant versement du prix de vente au n° 8737 du compte chèques postaux de l'Institut.

Les études sont publiées sous la responsabilité de leurs auteurs.

SÉRIE SCIENTIFIQUE

1. LEBRUN, J., **Les essences forestières des régions montagneuses du Congo oriental**, 264 pp., 28 fig., 18 pl., 25 fr., 1935. (*Epuisé.*)
2. STEYAERT, R.-L., **Un parasite naturel du *Stephanoderes*. Le *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILLEMIN**, 46 pp., 16 fig., 5 fr., 1935.
3. GHESQUIÈRE, J., **État sanitaire de quelques palmeraies de la province de Coquilhatville**, 40 pp., 4 fr., 1935.
4. STANER, P., **Quelques plantes congolaises à fruits comestibles**, 56 pp., 9 fig., 9 fr., 1935. (*Epuisé.*)
5. BEIRNAERT, A., **Introduction à la biologie florale du palmier à huile**, 42 pp., 28 fig., 12 fr., 1935. (*Epuisé.*)
6. JURION, F., **La brûlure des caféiers**, 28 pp., 30 fig., 8 fr., 1936.
7. STEYAERT, R.-L., **Étude des facteurs météorologiques régissant la pullulation du *Rhizoctonia solani* KÜHN sur le cotonnier**, 27 pp., 3 fig., 6 fr., 1936.
8. LEROY, J.-V., **Observations relatives à quelques insectes attaquant le caféier**, 30 pp., 9 fig., 10 fr., 1936. (*Epuisé.*)
9. STEYAERT, R.-L., **Le port et la pathologie du cotonnier. — Influence des facteurs météorologiques**, 32 pp., 11 fig., 17 tabl., 15 fr., 1936.
10. LEROY, J.-V., **Observations relatives à quelques hémiptères du cotonnier**, 20 pp., 18 pl., 9 fig., 35 fr., 1936.
11. STOFFELS, E., **La sélection du caféier *arabica* à la Station de Mulungu. (Premières communications)**, 41 pp., 22 fig., 12 fr., 1936.
12. OPSOMER, J.-E., **Recherches sur la « Méthodique » de l'amélioration du riz à Yangambi. I. La technique des essais**, 25 pp., 2 fig., 15 tabl., 15 fr., 1937.
13. STEYAERT, R.-L., **Présence du *Sclerospora Maydis* (RAC.) PALM (*S. javanica* PALM) au Congo belge**, 16 pp., 1 pl., 5 fr., 1937.
14. OPSOMER, J.-E., **Notes techniques sur la conduite des essais avec plantes annuelles et l'analyse des résultats**, 79 pp., 16 fig., 20 fr., 1937. (*Epuisé.*)
15. OPSOMER, J.-E., **Recherches sur la « Méthodique » de l'amélioration du riz à Yangambi. II. Études de biologie florale. — Essais d'hybridation**, 39 pp., 7 fig., 10 fr., 1938.
16. STEYAERT, R.-L., **La sélection du cotonnier pour la résistance aux stigmatomycoses**, 29 pp., 10 tabl., 8 fig., 9 fr., 1939.
17. GILBERT, G., **Observations préliminaires sur la morphologie des plantules forestières au Congo belge**, 28 pp., 7 fig., 10 fr., 1939.
18. STEYAERT, R.-L., **Notes sur deux conditions pathologiques de l'*Elaeis guineensis***, 13 pp., 5 fig., 4 fr., 1939.
19. HENDRICKX, F., **Observations sur la maladie verruqueuse des fruits du caféier**, 11 pp., 1 fig., 3 fr., 1939.
20. HENRARD, P., **Réaction de la microflore du sol aux feux de brousse. — Essai préliminaire exécuté dans la région de Kisantu**, 23 pp., 6 fr., 1939.
21. SOYER, D., **La « rosette » de l'arachide. — Recherches sur les vecteurs possibles de la maladie**, 23 pp., 7 fig., 11 fr., 1939.
22. FERRAND, M., **Observations sur les variations de la concentration du latex *in situ* par la microméthode de la goutte de latex**, 33 pp., 1 fig., 12 fr., 1941.
23. WOUTERS, W., **Contribution à la biologie florale du maïs. — Sa pollinisation libre et sa pollinisation contrôlée en Afrique centrale**, 51 pp., 11 fig., 14 fr., 1941.
24. OPSOMER, J.-E., **Contribution à l'étude de l'hétérosis chez le riz**, 30 pp., 1 fig., 12 fr., 1942.
- 24^{bis}. VRINDAGH, J., **Étude sur la biologie des *Dysdercus supersticiosus* F. (Hemiptera)**, 19 pp., 10 tabl., 15 fr., 1941. (*Epuisé.*)

25. DE LEENHEER, L., **Introduction à l'étude minéralogique des sols du Congo belge**, 45 pp., 4 fig., 15 fr., 1944.
- 25^{bis}. STOFFELS, E., **La sélection du caféier arabica à la Station de Mulungu. (Deuxièmes communications)**, 72 pp., 11 fig., 30 tabl., 50 fr., 1942. (*Epuisé.*)
26. HENDRICKX, F.-L., LEFÈVRE, P.-C. et LEROY, J.-V., **Les *Antestia* spp. au Kivu**, 69 pp., 9 fig., 5 graph., 50 fr., 1942. (*Epuisé.*)
27. BEIRNAERT, A. et VANDERWEYEN, R., **Contribution à l'étude génétique et biométrique des variétés d'*Elaeis guineensis* JACQUIN. (Communication n° 4 sur le palmier à huile)**, 100 pp., 9 fig., 34 tabl., 60 fr., 1941. (*Epuisé.*)
28. VRIJDAGH, J., **Étude de l'acariose du cotonnier, causée par *Hemitarsonemus latus* (BANKS) au Congo belge**, 25 pp., 6 fig., 20 fr., 1942. (*Epuisé.*)
29. SOYER, D., **Miride du cotonnier, *Creontiades pallidus* RAMB. Capsidae (Miridae)**, 15 pp., 8 fig., 25 fr., 1942. (*Epuisé.*)
30. LEFÈVRE, P.-C., **Introduction à l'étude de *Helopeltis orophila* GHESQ.**, 46 pp., 6 graph., 10 tabl., 14 photos, 45 fr., 1942. (*Epuisé.*)
31. VRIJDAGH, J., **Étude comparée sur la biologie de *Dysdercus nigrofasciatus* STAL, et *Dysdercus melanoderes* KARSCH.**, 32 pp., 1 fig., 3 pl. en couleur, 40 fr., 1942. (*Epuisé.*)
32. CASTAGNE, E., ADRIAENS, L. et ISTAS, R., **Contribution à l'étude chimique de quelques bois congolais**, 30 pp., 15 fr., 1946.
33. SOYER, D., **Une nouvelle maladie du cotonnier. La Psyllose provoquée par *Paurocephala gossypii* RUSSELL**, 40 pp., 1 pl., 9 fig., 50 fr., 1947.
34. WOUTERS, W., **Contribution à l'étude taxonomique et Caryologique du genre *Gossypium* et application à l'amélioration du cotonnier au Congo belge**, 398 pp., 5 pl., 18 fig., 250 fr., 1948.
35. HENDRICKX, F.-L., ***Sylloge fungorum congensium***, 216 pp., 100 fr., 1948.
36. FOUARGE, J., **L'attaque du bois de Limba (*Terminalia superba* ENGL. et DIELS) par le *Lyctus brunneus* LE C.**, 17 pp., 9 fig., 15 fr., 1947.
37. DONIS, C., **Essai d'économie forestière au Mayumbe**, 92 pp., 3 cartes, 63 fig., 70 fr., 1948.
38. D'HOORE, J. et FRIPIAT, J., **Recherches sur les variations de structure du sol à Yangambi**, 60 pp., 8 fig., 30 fr., 1948.
39. HOMÈS, M. V., **L'alimentation minérale du Palmier à huile *Elaeis guineensis* JACQ.**, 124 pp., 16 fig., 100 fr., 1949.
40. ENGELBEEN, M., **Contribution expérimentale à l'étude de la Biologie florale de *Cinchona Ledgeriana* MOENS**, 140 pp., 18 fig., 28 photos, 120 fr., 1949.
41. SCHMITZ, G., **La Pyrale du Caféier *Robusta Dichocrocis crocodora* MEYRICK, biologie et moyens de lutte**, 132 pp., 36 fig., 100 fr., 1949.
42. VANDERWEYEN, R. et ROELS, O., **Les variétés d'*Elaeis guineensis* JACQUIN du type *albescens* et l'*Elaeis melanococca* GAERTNER (em. BAILEY), Note préliminaire**, 24 pp., 16 fig., 3 pl., 30 fr., 1949.
43. GERMAIN, R., **Reconnaissance géobotanique dans le Nord du Kwango**, 22 pp., 13 fig., 25 fr., 1949.
44. LAUDELOUT H. et D'HOORE, J., **Influence du milieu sur les matières humiques en relation avec la microflore du sol dans la région de Yangambi**, 32 pp., 20 fr., 1949.
45. LÉONARD, J., **Étude botanique des copaliers du Congo belge**, 158 pp., 23 photos, 16 fig., 3 pl., 130 fr., 1950.
46. KELLOGG, C. E. et DAVOL, F. D., **An exploratory study of soil groups in the Belgian Congo**, 73 pp., 35 photos, 100 fr., 1949.

SÉRIE TECHNIQUE

1. RINGOET, A., **Notes sur la préparation du café**, 52 pp., 13 fig., 5 fr., 1935. (*Epuisé.*)
2. SOYER, L., **Les méthodes de mensuration de la longueur des fibres du coton**, 27 pp., 12 fig., 3 fr., 1935.
3. SOYER, L., **Technique de l'autofécondation et de l'hybridation des fleurs du cotonnier**, 19 pp., 4 fig., 2 fr., 1935. (*Epuisé.*)
4. BEIRNAERT, A., **Germination des graines du palmier *Elaeis***, 39 pp., 7 fig., 8 fr., 1936. (*Epuisé.*)
5. WÄELKENS, M., **Travaux de sélection du coton**, 107 pp., 23 fig., 15 fr., 1936.
6. FERRAND, M., **La multiplication de l'*Hevea brasiliensis* au Congo belge**, 34 pp., 11 fig., 12 fr., 1936. (*Epuisé.*)
7. REYENS, J.-L., **La production de la banane au Cameroun**, 22 pp., 20 fig., 8 fr., 1936.
8. PITTEY, R., **Quelques données sur l'expérimentation cotonnière. — Influence de la date des semis sur le rendement. — Essais comparatifs**, 61 pp., 47 tabl., 23 fig., 25 fr., 1936.
9. WÄELKENS, M., **La purification du Triumph Big Boli dans l'Uele**, 44 pp., 22 fig., 15 fr., 1936.

10. WAELKENS, M., **La campagne cotonnière 1935-1936**, 46 pp., 9 fig., 12 fr., 1936.
11. WILBAUX, R., **Quelques données sur l'épuration de l'huile de palme**, 16 pp., 6 fig., 5 fr., 1937. (*Épuisé.*)
12. STOFFELS, E., **La taille du caféier *arabica* au Kivu**, 34 pp., 22 fig., 8 photos et 9 planches, 15 fr., 1937. (*Épuisé.*)
13. WILBAUX, R., **Recherches préliminaires sur la préparation du café par voie humide**, 50 pp., 3 fig., 12 fr., 1937.
14. SOYER, L., **Une méthode d'appréciation du coton-graines**, 30 pp., 7 fig., 9 tabl., 8 fr., 1937. (*Épuisé.*)
15. WILBAUX, R., **Recherches préliminaires sur la préparation du cacao**, 71 pp., 9 fig., 20 fr., 1937.
16. SOYER, D., **Les caractéristiques du cotonnier au Lomami. — Étude comparative de cinq variétés de cotonniers expérimentées à la Station de Gandajika**, 60 pp., 14 fig., 3 pl., 24 tabl., 20 fr., 1937.
17. RINGOET, A., **La culture du quinquina. — Possibilités au Congo belge**, 40 pp., 9 fig., 10 fr., 1938. (*Épuisé.*)
18. GILLAIN, J., **Contribution à l'étude de races bovines indigènes au Congo belge**, 33 pp., 16 fig., 10 fr., 1938.
19. OPSOMER, J.-E. et CARNEWAL, J., **Rapport sur les essais comparatifs de décorticage de riz exécutés à Yangambi en 1936 et 1937**, 39 pp., 6 fig., 12 tabl. hors texte, 8 fr., 1938.
20. LECOMTE, M., **Recherches sur le cotonnier dans les régions de savane de l'Uele**, 38 pp., 4 fig., 8 photos, 12 fr., 1938.
21. WILBAUX, R., **Recherches sur la préparation du café par voie humide**, 45 pp., 11 fig., 15 fr., 1938.
22. BANNEUX, L., **Quelques données économiques sur le coton au Congo belge**, 46 pp., 14 fr., 1938.
23. GILLAIN, J., « **East Coast Fever** ». — **Traitement et immunisation des bovidés**, 32 pp., 14 graphiques, 12 fr., 1939.
24. STOFFELS, E.-H.-J., **Le quinquina**, 51 pp., 21 fig., 3 pl., 12 tabl., 18 fr., 1939. (*Épuisé.*)
- 25a. FERRAND, M., **Directives pour l'établissement d'une plantation d'*Hevea* greffés au Congo belge**, 48 pp., 4 pl., 13 fig., 15 fr., 1941.
- 25b. FERRAND, M., **Aanwijzingen voor het aanleggen van een geënte *Hevea* aanplanting in Belgisch-Congo**, 51 pp., 4 pl., 13 fig., 15 fr., 1941.
26. BEIRNAERT, A., **La technique culturale sous l'Équateur**, xi-86 pp., 1 portrait héliog., 4 fig., 22 fr., 1941. (*Épuisé.*)
27. LIVENS, J., **L'étude du sol et sa nécessité au Congo belge**, 53 pp., 1 fig., 16 fr., 1943.
- 27bis. BEIRNAERT, A. et VANDERWEYEN, R., **Note préliminaire concernant l'influence du dispositif de plantation sur les rendements. (Communication n° 1 sur le palmier à huile)**, 26 pp., 8 tabl., 10 fr., 1940. (*Épuisé.*)
28. RINGOET, A., **Note sur la culture du cacaoyer et son avenir au Congo belge**, 82 pp., 6 fig., 36 fr., 1944.
- 28bis. BEIRNAERT, A. et VANDERWEYEN, R., **Les graines livrées par la Station de Yangambi. (Communication n° 2 sur le palmier à huile)**, 41 pp., 15 fr., 1941. (*Épuisé.*)
29. WAELKENS, M. et LECOMTE, M., **Le choix de la variété de coton dans les Districts de l'Uele et de l'Ubangi**, 31 pp., 7 tabl., 25 fr., 1941. (*Épuisé.*)
30. BEIRNAERT, A. et VANDERWEYEN, R., **Influence de l'origine variétale sur les rendements. (Communication n° 3 sur le palmier à huile)**, 26 pp., 8 tabl., 20 fr., 1941. (*Épuisé.*)
31. POSKIN, J.-H., **La taille du caféier *robusta***, 59 pp., 8 fig., 25 photos, 60 fr., 1942. (*Épuisé.*)
32. BROUWERS, M.-J.-A., **La greffe de l'*Hevea* en pépinière et au champ**, 29 pp., 8 fig., 12 photos, 30 fr., 1943. (*Épuisé.*)
33. DE POERCK, R., **Note contributive à l'amélioration des agrumes au Congo belge**, 78 pp., 60 fr., 1945. (*Épuisé.*)
34. DE MEULEMEESTER, D. et RAES, G., **Caractéristiques de certaines variétés de coton spécialement congolaises**, Première partie, 110 pp., 40 fr., 1947.
35. DE MEULEMEESTER, D. et RAES, G., **Caractéristiques de certaines variétés de coton spécialement congolaises**, Deuxième partie, 37 pp., 40 fr., 1947.
36. LECOMTE, M., **Étude des qualités et des méthodes de multiplication des nouvelles variétés cotonnières au Congo belge**, 56 pp., 4 fig., 40 fr., 1949.
37. VANDERWEYEN, R. et MICLOTTE, H., **Valeur des graines d'*Elaeis guineensis* Jacq. livrées par la station de Yangambi**, 24 pp., 15 fr., 1949.

FLORE DU CONGO BELGE ET DU RUANDA-URUNDI
Spermatophytes.

Volume I, 456 pp., 43 pl., 12 fig., édition sur papier ordinaire : 300 fr., édition sur papier mince : 500 fr., 1948.

COLLECTION IN-4°

LOUIS, J. et FOUARGE J., Essences forestières et bois du Congo.

Fascicule 1. Introduction (*en préparation*).

Fascicule 2. *Afrormosia elata*, 22 pp., 6 pl., 3 fig., 55 fr., 1943.

Fascicule 3. *Guarea Thompsoni*, 38 pp., 4 pl., 8 fig., 85 fr., 1944.

Fascicule 4. *Eniandrophragma palustre*, 75 pp., 4 pl., 5 fig., 180 fr., 1947.

Fascicule 5. *Guarea Laurentii*, xiv+14 pp., 1 portrait héliogr., 3 pl., 60 fr., 1948.

Fascicule 6. *Macrolobium Dewevrei*, 44 pp., 5 pl., 4 fig., 90 fr., 1949.

BERNARD, E., Le climat écologique de la Cuvette centrale congolaise, 240 pp., 36 fig., 2 cartes, 70 tabl., 300 fr., 1945.

HORS SÉRIE

*** **Renseignements économiques sur les plantations du secteur central de Yangambi**, 24 pp., 3 fr., 1935.

*** **Rapport annuel pour l'Exercice 1936**, 143 pp., 48 fig., 20 fr., 1937.

*** **Rapport annuel pour l'Exercice 1937**, 181 pp., 26 fig., 1 carte hors texte, 20 fr., 1938.

*** **Rapport annuel pour l'Exercice 1938** (1^{re} partie), 272 pp., 35 fig., 1 carte hors texte, 35 fr., 1939.

*** **Rapport annuel pour l'Exercice 1938** (2^e partie), 216 pp., 25 fr., 1939.

*** **Rapport annuel pour l'Exercice 1939**, 301 pp., 2 fig., 1 carte, 35 fr., 1941.

*** **Rapport pour les Exercices 1940 et 1941**, 152 pp., 50 fr., 1943. (*Epuisé.*)

*** **Rapport pour les Exercices 1942 et 1943**, 154 pp., 50 fr., 1944. (*Epuisé.*)

*** **Rapport pour les Exercices 1944 et 1945**, 191 pp., 80 fr., 1947.

*** **Rapport annuel pour l'Exercice 1946**, 184 pp., 70 fr., 1948.

*** **Rapport annuel pour l'Exercice 1947**, 217 pp., 80 fr., 1948.

*** **Rapport annuel pour l'Exercice 1948**, 290 pp., 150 fr., 1949.

GOEDERT, P., Le régime pluvial au Congo belge, 45 pp., 4 tabl., 15 planches et 2 graphiques hors texte, 30 fr., 1938.

BELOT, R.-M., La sériciculture au Congo belge, 148 pp., 65 fig., 15 fr., 1938. (*Epuisé.*)

BAEYENS, J., Les sols de l'Afrique centrale et spécialement du Congo belge, tome I. Le Bas-Congo, 375 pp., 9 cartes, 31 fig., 40 photos, 50 tabl., 150 fr., 1938. (*Epuisé.*)

LEBRUN, J., Recherches morphologiques et systématiques sur les caféiers du Congo, 183 pp., 19 pl., 80 fr., 1941. (*Epuisé.*)

TONDEUR, R., Recherches chimiques sur les alcaloïdes de l'« Erythrophleum », 52 pp., 50 fr., 1950.

*** **Communications de l'I.N.É.A.C.**, Recueil n° 1, 66 pp., 7 fig., 60 fr., 1943. (Imprimé en Afrique.)

*** **Comptes rendus de la Semaine agricole de Yangambi (du 26 février au 5 mars 1947)**, 2 vol. illustr., 952 pp., 500 fr., 1947.

FICHES BIBLIOGRAPHIQUES

Les fiches bibliographiques éditées par l'Institut peuvent être distribuées au public moyennant un abonnement annuel de 500 francs (pour l'étranger, port en plus). Cette documentation bibliographique est éditée bimensuellement, en fascicules d'importance variable, et comprend environ 3.000 fiches chaque année. Elle résulte du recensement régulier des acquisitions des bibliothèques de l'Institut qui reçoivent la plupart des publications périodiques et des ouvrages de fond intéressant la recherche agronomique en général et plus spécialement la mise en valeur agricole des pays tropicaux et subtropicaux.

Outre les indications bibliographiques habituelles, ces fiches comportent un indice de classification (établi d'après un système empirique calqué sur l'organisation de l'Institut) et un compte rendu sommaire en quelques lignes.

Un fascicule-spécimen peut être obtenu sur demande.