

Plantes de la Guyane française. IV. Sur les polyphénols de l'*Helosis guyanensis* Rich., Balanophoracées.

Par R.-R. Paris, M.-N. Alexis, G. Faugeras et H. Jacquemin¹

Résumé

Des polyphénols à noyau flavanone et flavane ont été identifiés chez l'*Helosis guyanensis* Rich. Les premiers sont représentés par 3 glucosides de l'ériodictyol, dont le 3'-O-β-D-glucoside qui a été isolé à l'état de peracétate cristallisé; les deuxièmes par le catéchol et par une assez forte proportion de tannins catéchiques.

Summary

In *Helosis guyanensis* Rich. we characterised polyphenols belonging to the flavanone and flavan groups. The first are three eriodictyol glucosides: the 3'-O-β-D-glucoside has been isolated as crystalline peracetate. The second are catechin and catechol tannins.

1. Introduction

Dans le cadre de nos recherches sur les plantes de la Guyane française [1, 2, 5] et grâce à une récolte effectuée par l'un de nous (H. J., ORSTOM, Cayenne), nous avons entrepris l'étude de l'*Helosis guyanensis* Rich.

C'est une Balanophoracée des Guyanes qu'on retrouve aussi dans les régions voisines à climat chaud et humide, jusqu'en Amazonie brésilienne et aux Antilles. Elle se présente comme une plante parasite aphyllé, charnue et dépourvue de chlorophylle, fixée par son rhizome aux racines et certains arbres et dont les inflorescences, ovoïdes et mame-lonnées, sont portées par de longs pédoncules.

2. Matériel et méthodes

Les échantillons étudiés ont été récoltés en mai 1975 aux environs de Cayenne (Réf. herbier, centre ORSTOM: H. J. 1618). Ils sont constitués de la plante entière comprenant rhizomes, pédoncules et fructifications.

Des essais préliminaires d'orientation ont tout d'abord été effectués sur les divers organes récoltés. La recherche des quinones, des saponosides, des

anthocyanes, des pro-anthocyanidols et des tanins galliques s'est montrée négative et celle des alcaloïdes très faiblement positive, mais la plante est apparue assez riche en flavonoïdes du groupe des flavanones et en catéchines. Aussi leur extraction a-t-elle été tentée.

Dans ce but, un mélange de pédoncules et de fructifications a été épuisé à l'alcool à 60° puis l'extrait, repris par l'acétate d'éthyle, a été fractionné par chromatographie sur colonne de polyamide, chromatographie préparative sur couche mince de silice ou sur papier.

Dans un cas, il a été nécessaire d'avoir recours à l'acétylation et au fractionnement des dérivés acétylés sur colonne de silice-célite.

Les points de fusion ont été déterminés au microscope Reichert à platine chauffante. Les spectres UV ont été enregistrés avec le spectrophotomètre Beckman DB. Le pouvoir rotatoire a été mesuré avec le polarimètre électronique Zeiss (filtre 578 nm) et le spectre de masse a été établi avec l'appareil AEI MS 2.

3. Partie expérimentale

3.1 Essais préliminaires

Ils ont été effectués selon les techniques du Laboratoire de matière médicale de Paris [4].

3.2 Chromatographies sur couche mince

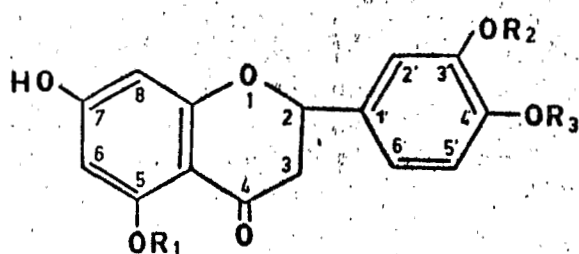
Elles ont été réalisées selon les techniques figurant au tabl. 2 en révélant avec: 1. H₂SO₄ - HCHO 30 % (9-1), colorations brunes après chauffage à 120° (polyphénols, sur couche mince); 2. hydroborure de potassium à saturation dans l'alcool à 60° + vapeur de HCl, colorations roses, ou violettes (flavanones, sur papier); 3. réactif de Gibbs [3], colorations bleues ou gris-violacé.

3.3 Hydrolyses

Pour les hydrolyses acides, les hétérosides sont chauffés au bain-marie bouillant, à reflux, pendant 2 heures, avec H₂SO₄N et, pour les hydrolyses enzymatiques, 1 mg environ est additionné de 1 mg d'émulsine et de 0,5 ml d'eau, puis chauffé 24 heures

O. R. S. T. O. M.

Tableau 1

Flavanones de l'*Helosis guyanensis* Rich.

	R ₁	R ₂	R ₃
(I) Eriodictyol	H	H	H
(II) Eriodictyol 3'-O-β-D- glucoside	H	β-D-glucosyl-	H
(III) Eriodictyol 5,3'-O-β-D- glucoside	β-D-glucosyl-	β-D-glucosyl-	H
(IV) Eriodictyol 5,4'-O-β-D- glucoside	β-D-glucosyl-	- H	β-D-glucosyl-

à 37°. Les sucres sont identifiés par CCM sur silice avec *n*-butanol-isopropanol-eau (5-1-3) comparativement à des témoins authentiques et en révélant avec le phtalate d'aniline.

3.4 Acétylations

La substance est dissoute dans le mélange anhydride acétique-pyridine (5-4) et la solution est abandonnée 16 heures à l'obscurité et à la température du laboratoire. Celle-ci est ensuite versée dans l'eau glacée; en agitant, il apparaît un précipité blanc, formé par des dérivés acétylés, qui est recueilli. Le reste des acétates est extrait en épuisant le liquide aqueux au chloroforme.

3.5 Extraction des flavanones et des catéchines

400 g de plante sèche, comprenant environ 200 g de fructifications et 200 g de pédoncules, sont épuisés à l'alcool à 60° par double macération de 12 puis 48 heures. Les liqueurs filtrées (4 l) sont réunies et le solvant est chassé sous pression réduite, à température < 50°. La solution aqueuse résiduelle (1,2 l) est épuisée à l'acétate d'éthyle (3 l). La phase organique, trouble, est purifiée par filtration, puis le filtrat est séché sur Na₂SO₄ et concentré sous pression réduite à température < 40°; il apparaît un précipité rougeâtre qui est séparé (1,2 g). Le liquide est

concentré à sec dans les conditions ci-dessus (résidu: 9,2 g).

4,7 g de résidu sont fractionnés par chromatographie sur une colonne de polyamide (Woelm 3440, 100 g) en éluant à l'alcool à 96° par fractions de 5 ml. Les fractions semblables sont réunies en sept groupes (A à G). L'éluion est poursuivie avec le mélange alcool à 96° - diméthylformamide (1-1) (H):

A fractions	1- 55
B fractions	56- 70 flavanones, traces
C fractions	71-112 flavanones (II) +++
D fractions	113-140 flavanones (II) ++, catéchol ++
E fractions	141-250 flavanones (II) +, catéchol +++
F fractions	251-350 flavanones (III) ++, catéchol ++
G fractions	351-487 flavanones (III), traces, catéchol +
H	(total 1,5 l) tanins catéchiques

Tableau 2

Identification des polyphénols de l'*Helosis guyanensis* Rich.

	Chromatographie (Rf)				Spectrométrie U.V.	
	1	2	3	4	λ max (nm)	
Eriodictyol	0,93	0,40	-	0,58	288	325 (i) a
					308	373 b
					308	373 c
					290 (i)	322 d
					288	320 (i) e
					245 (i)	322 f
Eriodictyol 3'-O-β-D- glucoside	0,37	0,60	0,26	-	285	325 (i) a
					310	375 b
					308	372 c
					286 (i)	322 d
					285	325 (i) e
					244	323 f
Eriodictyol 5,3'-O-β-D- glucoside	0,19	0,45	0,45	-	282	a
					282	365 (i) b
					280	360 (i) c
					290 (i)	322 d
					282	e
					248	323 f
Eriodictyol 5,4'-O-β-D- glucoside	0,19	0,55	0,46	-	282	a
					282	265 (i) b
					280	260 (i) c
					285 (i)	322 d
					282	e
					254	322 f
Catéchol	0,70	0,62	-	0,52	279	a
					280	b
					280	c
					280	430 d
					283	e
					280	430 f

2 - Acide acétique-eau (15-85), papier Whatman No 1.

3 - Eau-alcool à 96°-méthyléthylcétone-acétylacétone (65-15-15-5), polyamide sur film d'aluminium.

4 - Benzène-méthyléthylcétone-méthanol (50-25-25), polyamide sur film d'aluminium.

a: MeOH, b: +AlCl₃, c: +AlCl₃+HCl, d: +NaOAc,

e: +NaOAc+H₂BO₃, f: +NaOH

Les fractions C sont évaporées à sec (résidu 213 mg), une partie (54 mg) est purifiée par CCM préparative (solvant 1, tabl. 2). Les zones Rf moyen 0,35 sont éluées à l'alcool à 96 ° et l'éluat est évaporé à sec. Le résidu (amorphe, blanc) est hydrolysé en milieu acide et par l'émulsine; on obtient l'ériodictyol cristallisé (aiguilles blanc-crème 10 g, F 250-255 °), M+ 288, Rf en CCM et spectres UV identiques à un témoin authentique) et le glucose (Rf en CCM). Les spectres UV (tab. 2) et la coloration grise par le réactif de Gibbs précisent la structure: ériodictyol 3'-O-β-D-glucoside.

Les fractions D sont évaporées à sec. Le résidu (190 mg) est divisé en deux parties.

La première (135 mg) est acétylée et le produit obtenu est fractionné sur une colonne de silice-cellite (5-1), en éluant avec benzène-acétone (9-1) par fractions de 2 ml. Les fractions 3 à 13 sont évaporées à sec et le résidu est recristallisé dans l'alcool à 96 °. On obtient 12 mg d'aiguilles blanches F 129 ° [α]_D²²-15, 15 °, identiques au dérivé acétylé préparé dans les mêmes conditions avec (II) (Rf en CCM: 0,52 avec benzène-acétone (8-2) sur silice).

La deuxième partie (55 mg) est purifiée par CCM préparative (solvant 1, tabl. 2). On obtient: d'une part le catéchol (Rf 0,65) identifié à un témoin authentique (Rf en CCM, spectres UV) et, d'autre part, un mélange de deux flavanones (Rf 0,20). Ces dernières sont séparées par chromatographie préparative sur papier (solvant 2, tabl. 2): Rf 0,45 et 0,55. Leur hydrolyse enzymatique par l'émulsine conduit à l'ériodictyol et au glucose; leurs Rf en CCM, leurs spectres UV et leur coloration par le réactif de Gibbs (grise pour la première et bleu vif pour la deuxième) permettent de les identifier respectivement à l'ério-

dictyol 5,3'-O-β-D-diglycoside (III) à l'ériodictyol 5,4'-O-β-D-diglycoside (IV).

Dans les fractions H, des tanins catéchiques sont identifiés par des réactions de coloration et de précipitation, notamment avec le réactif de Stiasny (HCl-HCHO 30 %, 20-40, au bain-marie bouillant pendant 30 min) qui a permis aussi leur dosage à partir d'un extrait à 1 % préparé par digestion aqueuse (80 °, 2 heures) de 2 g de fructifications: résultat 3,8 %.

4. Conclusion

La composition chimique de l'*Helosis guyanensis* présente des analogies avec celle d'une autre Balanophoracée, le *Lophophytum leandri* Eichl., chez lequel des polyphénols voisins ont été récemment découverts [6]. Il est intéressant de signaler chez une plante parasite sans chlorophylle l'existence de flavanones.

Bibliographie

- [1] Cavé A., Bruneton J. et Paris R.-R., Pl. méd. et Phytoth., 6, 228 (1972).
- [2] Fougère S., Tillequin F., Paris M., Jacquemin H. et Paris R.-R., Ann pharm. fr., 34, 339 (1976).
- [3] King F. E., King T. J. et Manning U. C., J. Chem. Soc., 563 (1957).
- [4] Paris R.-R. et Nothls A., Pl. méd. et Phytoth., 3, 274 (1969).
- [5] Paris R.-R. et Pointet M., Ann. pharm. fr., 12, 547 (1954).
- [6] Weinges K. et Kolb R., Phytochemistry, 10, 829 (1971).

Adresse des auteurs

Professeur R.-R. Paris, Laboratoire de matière médicale, Faculté des Sciences pharmaceutiques et biologiques, 4, avenue de l'Observatoire, 75270 Paris Cedex 06.