

## COMPOSES PHENOLIQUES DU LATEX D'*HEVEA BRASILIENSIS*: AGLYCONES

P. HANOWER, J. BRZOWSKA-HANOWER, H. CRETIN et R. CHEZEAU

Laboratoire de Physiologie Végétale, Centre d'Adiopodoumé, O.R.S.T.O.M., B.P. V51 Abidjan, Ivory Coast

(Reçu le 12 juillet 1978)

**Key Word Index**—*Hevea brasiliensis*; Euphorbiaceae; latex; phenolics.

**Abstract**—The latex of *Hevea brasiliensis*; clone PR 107, contains from 160 to 1100 µg total phenolics per ml. This wide variability is associated with season, tapping system and application or not of a stimulant (Ethrel). The following aglycones have been identified in hydrolysed extracts: vanillic, salicylic, syringic, gentisic, *p*- and *m*-hydroxybenzoic and protocatechuic acids; scopoletin, aesculetin and coumarin; ferulic, sinapic, caffeic, *o*- and *p*-coumaric acids; quercetin and kaempferol; tyrosine and dihydroxyphenylalanine. Flavans and condensed tannins are also present in latex.

### INTRODUCTION

La présence dans les particules de Frey-Wyssling d'une *o*-diphénol oxydase active impliquée dans le processus de la coagulation du latex sur l'encoche, de même que l'influence de certains phénols exogènes sur la coagulation du latex *in vitro* [1, 2] nous ont conduit à la recherche des composés phénoliques dans le latex. Il semble, en effet, que l'enzyme et les substances phénoliques pourraient constituer un système régulateur de l'écoulement du latex.

A ce jour un nombre très restreint de ces composés ont été signalés dans le latex et ceux-ci en faibles quantités. Seule la présence de la tyrosine [3-6] et des tocotrienols [4, 7] est bien établie. Dans la présente note nous apportons les résultats préliminaires de recherches concernant les teneurs du latex en phénols totaux et l'identification des aglycones.

### RESULTATS ET DISCUSSION

Contrairement aux opinions généralement répandues, le latex d'*Hevea brasiliensis* contient des quantités importantes de composés phénoliques. Dans le latex du clone PR 107, on trouve entre 160 et 1100 µg de phénols totaux par ml, dont 120 à 650 µg dans le sérum cytoplasmique et 40 à 450 µg dans le sédiment. Les teneurs en phénols totaux présentent des fortes variations saisonnières avec des minima au cours des premiers mois du cycle végétatif et des maxima vers la fin. Ces teneurs varient également dans de larges limites en fonction du mode d'exploitation des arbres. La stimulation de la production par l'Ethrel, générateur d'éthylène, entraîne une augmentation importante des phénols totaux (jusqu'à plus de 200 % du témoin).

Parmi les composés phénoliques particuliers seule la tyrosine a été systématiquement dosée. Cet acide aminé phénolique est localisé à 70 % dans le sédiment. Comme les phénols totaux, la tyrosine est sujette aux variations saisonnières. Selon l'époque de l'année elle constitue entre 5 et 35 % du 'pool' phénolique dans le latex des arbres non stimulés. Cette proportion s'accroît considérablement après la stimulation à l'Ethrel et peut atteindre 65 %.

Les recherches préliminaires ayant pour but d'inventorier et d'identifier les aglycones libres ou libérés par

hydrolyse ont permis de détecter plus de quatre-vingt taches fluorescentes ou donnant des réactions positives aux réactifs des phénols. La présence de ces taches sur les chromatogrammes dépend du type d'hydrolyse effectuée d'une part, de l'époque de prélèvement du matériel végétal au cours de l'année d'autre part, et, enfin, du mode d'exploitation ('stress') des arbres.

Si certaines de ces taches peuvent correspondre à des substances transformées par suite des différents traitements (hydrolyses fortes) et de l'oxydation, la grande majorité semblent correspondre à des substances de type phénolique existant à l'état libre ou lié dans le latex.

Une trentaine de taches sont inventoriées lorsque l'extraction des aglycones libres est effectuée immédiatement après le prélèvement du latex. Ce nombre atteint une cinquantaine, si les opérations d'extraction s'étalent sur 2-3 jours, d'autres aglycones étant libérés spontanément de leur combinaisons avec les substances non phénoliques sans qu'une hydrolyse quelconque soit nécessaire.

Les formes complexes dans lesquelles les composés phénoliques se trouvent engagés semblent être surtout de type glucoside. Le glucose est le principal sucre détecté sur les chromatogrammes des hydrolysats; il est accompagné de traces de rhamnose. A ce jour 23 aglycones ont pu être identifiés. Il appartiennent à différents groupes des phénols.

Le groupe des dérivés benzoïques est très bien représenté par les composés suivants, cités par ordre décroissant d'importance apparente; acide vanillique, salicylique, gentisique, *para* et *méta* hydroxybenzoïque et protocatéchique. Les 'dérivés cinnamiques' comprend les coumarines et les acides hydroxycinnamiques. La scopoletine en particulier est présente systématiquement et en grande quantité, constituant un des principaux composés phénoliques du latex. La présence de l'aesculétine est très fréquente. De plus, ont été identifiés les acides férulique, sinapique, caféique et *p*-coumarique sous leur deux formes isomères *cis* et *trans*. La coumarine et l'acide *o*-coumarique ne semble se rencontrer que sporadiquement.

Dans le groupe des flavonols on note la présence permanente d'un composé abondant qui semble correspondre à la quercétine, tandis que le kaempférol n'apparaît qu'occasionnellement. Parmi les acides aminés

phénoliques, à côté de la tyrosine déjà signalée, le 3,4-dihydroxyphénylalanine a pu être mise en évidence. Le latex contient également des flavanes et des tannins condensés (proanthocyanidines).

Comme la tyrosine, les flavanes et les tanins condensés sont localisés essentiellement dans le sédiment. Aucune différence qualitative entre les deux compartiments n'a pu, jusqu'à présent, être mise en évidence, du moins en ce qui concerne les aglycones.

#### PARTIE EXPERIMENTALE

**Matériel végétal.** Le latex d'*Hevea brasiliensis* (Kunth) Müll. Arg. provient de la plantation de l'Institut de Recherches sur le Caoutchouc en Afrique (IRCA) d'Anguédou en Côte d'Ivoire. Des lots de 25 arbres sains du clone PR 107, aussi homogènes que possible, ont été sélectionnés en prenant comme critère l'âge des arbres, la circonférence, l'aspect de la couronne, la hauteur de l'encoche et la productivité en latex.

**Exploitation des arbres et prélèvement du latex.** Les arbres sont saignés deux fois par semaine en demi-spirale (S/2 J/3 J/4), à 7 hr du matin. Les premiers ml du latex contenant des impuretés et des organites dégradés sont écartés et les 50 ml suivants recueillis dans un récipient plongé dans de la glace. On réunit alors les latex de 25 arbres afin de constituer un échantillon moyen.

Dans le cas de la stimulation de la production, on emploie de l'acide 2-chloroéthylphosphonique (Ethrel), générateur d'éthylène, à raison de 100 mg de matière active par arbre.

**Préparation des extraits phénoliques du latex.** Le latex est centrifugé pendant 60 min à 35000 g à 4°. La couche surnageante constituée des particules de caoutchouc est éliminée. Le sérum clair sous-jacent et le sédiment constitué essentiellement de lutoïdes et de particules de Frey-Wyssling sont aussitôt additionnés, séparément ou non, de MeOH absolu (1/6). L'extraction des composés phénoliques se poursuit 24 hr à 4° sous agitation magnétique et barbotage d'azote. Après centrifugation de 20 min à 30000 g et 2 lavages du culot au MeOH à 80%, les extraits méthanoliques réunis sont évaporés à sec sous vide à la température ambiante. Le résidu sec est repris par de l'eau bidistillée et débarrassé des lipides et des caroténoïdes par l'éther de pétrole. La fraction aqueuse sert, d'une part, aux dosages des phénols totaux, d'autre part, aux hydrolyses acide, alcaline ou

enzymatiques réalisées en vue de l'identification des aglycones.

**Dosage des composées.** L'estimation quantitative des phénols totaux est réalisée à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu [8-10]. La tyrosine est dosée par chromatographie sur colonne en même temps que l'ensemble des acides aminés du latex [6].

**Hydrolyse des extraits aqueux et identification des produits libérés.** L'hydrolyse acide, alcaline et enzymatique (par la  $\beta$ -glucosidase) des combinaisons phénoliques, la séparation par chromatographie sur papier des composées libres ou libérées et leur identification sont effectuées selon les méthodes décrites [9, 11-13].

**Mise en évidence des flavanes et proanthocyanidines.** Les flavanes sont testés à la vanilline en milieu acide avant hydrolyse [14], soit sur l'extrait méthanolique, soit sur l'extrait aqueux du précipité méthanolique, soit enfin sur le sérum cytoplasmique et le sérum issu de la fraction sédimentable du latex.

La présence de proanthocyanidines est testée sur les mêmes fractions par chauffage en milieu acide (transformation partielle en anthocyanidines) [14].

#### REFERENCES

1. Hanower, P., Brzozowska, J. et Lioret, C. (1976) *Physiol. Vég.* **14**, 677.
2. Brzozowska-Wnuk, J., Hanower, P. et Lioret, C. (1978) *Physiol. Vég.* **16**, 231.
3. Altman, R. F. A. (1940) *Arch. Rubbercult.* **24**, 647.
4. Tan Chee Hont et Audley, B. G. (1968) *Phytochemistry* **7**, 109.
5. D'Auzac, J. (1965) Thèse Doc. Sc. Nat., Paris.
6. Brzozowska, J., Hanower, P. et Chezeau, R. (1974) *Experientia* **30**, 894.
7. Whittle, K. J., Dunphy, P. J. et Pennock, J. F. (1966) *Biochem. J.* **100**, 138.
8. Folin, O. et Ciocalteu, V. (1927) *J. Biol. Chem.* **73**, 627.
9. Tanguy, J. (1970) Thèse Doc. Sc. Nat., Paris.
10. Swain, T. et Hillis, W. E. (1959) *J. Food Agric.* **7**, 669.
11. Harborne, J. B. (1959) *J. Chromatogr.* **2**, 581.
12. Partridge, S. M. (1949) *Nature* **164**, 443.
13. Cartwright, R. A. et Roberts, E. A. H. (1955) *Chem. Ind.* **230**.
14. Ribéreau-Gayon, P. (1968) dans *Composés Phénoliques des Végétaux*, p. 173. Dunod, Paris.