

PLANTES MALGACHES N° XXI
SUR LES FLAVONOÏDES DU *XYRIS SEMIFUSCATA*
(XYRIDACÉES)

par A. LINARD, H. JACQUEMIN et R. PARIS

RÉSUMÉ

D'une Monocotylédone de Madagascar, *Xyris semifuscata*, ont été séparés des acides-phénols (vanillique et syringique, caféique, p-coumarique et férulique) et des dérivés flavoniques : ceux-ci sont, d'une part des flavonols : hétéromonoside (3-glucoside) et hétérobioside (3-diglucoside) de quercétol et, d'autre part, des mono C-glucosides de flavone (lutéoline) existant sous forme d'isoorientine et d'un isomère et sous forme d'Orhamnosylisoorientine, ce qui permet certains rapprochements au point de vue chimiotaxinomie des Xyridacées.

SUMMARY

In *Xyris semifuscata*, a Monocotyledon from Malagasy, were characterised phenolic-acids : (vanillic, syringic, p-coumaric and ferulic) and flavonoïds. The last components are represented by flavonols : heteromonoside (3-glycoside) and heterobioside (3-cafeyl-diglycoside) of quercetol and by flavones : mono C-glycosides of luteoline (isoorientine and isomer) and O-rhamnosylisoorientine. The results are interesting for taxonomy of Xyridaceae.

Le *Xyris semifuscata* Bojer ap. Baker est une Monocotylédone de Madagascar, récoltée par l'un de nous (HJ) et envoyée au laboratoire en 1974 par l'O. R. S. T. O. M.

Il s'agit d'une petite plante herbacée d'environ 30 cm de haut, poussant dans les marais à une altitude de 1.000 à 1.500 m. Les feuilles linéaires étroites, disposées en touffes à la base, comportent 6 à 9 nervures parallèles ; les fleurs du type 3 sont groupées en capitules globuleux (6 × 5 mm en moyenne), de couleur brun foncé, pauciflores (4 à 10 fleurs), et entourés de bractées coriaces ; le fruit est une capsule ovale contenant des graines fusiformes [7].

Des essais préliminaires suivant les techniques habituelles du laboratoire [5] [6], ont montré l'absence d'alcaloïdes et de saponines dans les tiges feuillées, mais la présence de tanins, de flavonoïdes et de quinoïnes. L'un de nous (RP) avec G. FOURNIER, L. BERCHT et M. PARIS [2]

27 MAI 1986

— 267 —

O. R. S. T. O. M. Fonds Documentaire

N° : 20214

Cote : B

30 AOUT 1977

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

Collection de Référence

8679 B.B.V.

a pu montrer que l'une de ces quinones était identique à la méthoxy-3 chrysazine-(trihydroxy-1.3.8 anthraquinone-9.10). Sont rapportés dans ce travail, des essais complémentaires entrepris à propos des flavonoïdes et des acides-phénols.

Les acides-phénols ont été recherchés sur l'infusé de feuilles à 10 %, acidifié par l'acide sulfurique au 1/10 jusqu'à pH : 1. On épuise par l'éther éthylique — ce dernier est traité par le carbonate acide de sodium (solution à 2 %) ; après acidification par l'acide chlorhydrique, on épuise de nouveau à l'éther. Le résidu d'évaporation est examiné en chromatographie sur couche mince de silice en utilisant comme solvant, soit l'acide acétique à 2 %, soit l'acide chlorhydrique 0,1 N — en présence de témoins externes et internes ; le révélateur est la paranitraniline diazotée. Ont été ainsi caractérisés par cochromatographie 5 acides-phénols : deux de la série hydroxybenzoïque : les acides vanillique et syringique (tous deux méthylés) et trois de la série hydroxy-cinnamique : les acides caféique, p-coumarique et férulique (ce dernier étant seul méthylé).

Les flavonoïdes ont été dosés à partir d'un extrait alcoolique par spectrophotométrie du complexe avec le chlorure d'aluminium, suivant la méthode habituelle : la teneur en flavonoïdes totaux (exprimée en rutoside) est d'environ 5 %.

Génines : La nature des génines a été déterminée après hydrolyse acide (H_2SO_4 N pendant 2 heures au bain-marie bouillant) d'un extrait alcoolique, la solution aqueuse acide étant épuisée par l'éther, puis l'acétate d'éthyle et le butanol. Ces solvants sont concentrés à sec, on reprend par une petite quantité d'alcool et on examine en chromatographie sur couche mince de cellulose avec, comme solvants, le butanol acétique (4-1-5) ou l'acide acétique à 60 % et, comme révélateurs, le chlorure d'aluminium, le chlorure ferrique ou le sous-acétate de plomb.

Avec l'extrait éthéré, on obtient une tache principale ayant les propriétés (R_f et spectre ultra-violet) du quercétol (tétrahydroxy-5,7,3',4', flavonol).

Cette génine est également présente dans la plante sèche — où elle peut être mise en évidence avant hydrolyse.

Dans l'extrait acétate d'éthyle et surtout l'extrait butanolique apparaissent d'autres taches, non modifiées après hydrolyse acide, se comportant comme des mono-C-flavonosides.

On a ensuite essayé de séparer les *hétérosides flavoniques*. Ceux-ci ont été extraits par l'alcool bouillant (à 80°) à partir des feuilles sèches suivant la méthode de CHARAUX-PARIS : l'extrait alcoolique est repris par l'eau bouillante et on épuise successivement par l'éther (a), l'acétate d'éthyle (b), et le butanol (c) ; les extraits sont étudiés en chromatographie sur couche mince (CCM) :

1) *de cellulose* : solvants : acide acétique à 15 % (S₁) et butanol acétique de PARTRIDGE 4-1-5 (partie supérieure) (S₂) ou butanol-ac. acétique-eau (4-1-1), avec les révélateurs habituels des flavonosides : chlorure d'aluminium ou réactif de NEU (diphénylborate d'aminoéthyle), chlorure ferrique, sous-acétate de plomb (pour les ortho-diphénols) ;

2) *de silicagel* : solvants : acétate d'éthyle-méthanol-eau (100-16,5-13,5) (v/v) (S₃) ; acétate d'éthyle-méthyléthylcétone-ac. formique-eau (5-3-1-1) (S₄) ;

3) *de polyamide* : solvants : benzène-méthyléthylcétone-méthanol (100-50-50) (S₅) ; eau-éthanol-méthyléthylcétone-acétylacétone (13-3-3-1) (EGGER) (S₆).

Ces essais mettent en évidence dans les extraits étherés une tache migrant au même niveau que le quercétol et des taches secondaires correspondant à des acides-phénols ; dans les extraits acétate d'éthyle et butanolique peuvent être décelées 5 à 6 taches (suivant les solvants) de dérivés flavoniques.

Tableau des Rf en chromatographie sur couche mince

Extrait acétate éthyle	Cellulose		Silice		Polyamide	
	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	S ₆
	0,04	0,28	0,38	0,42	0,04	0,12
	0,15	0,30	0,40	0,50	0,08	0,18
	0,35	0,34	0,42	0,52	0,10	0,34
	0,72	0,40	0,52	0,66	0,12	0,36
	—	0,44	0,56	0,82	0,24	0,46
	—	0,62	0,64	0,90	0,28	

Extrait butanol	Cellulose		Silice		Polyamide	
	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	S ₆
	0,12	0,10	0,16	0,16	0,02	0,10
	0,14	0,22	0,24	0,22	0,04	0,34
	0,32	0,26	0,34	0,26	0,10	0,46
	0,44	0,36		0,30		0,62
	0,48			0,42		0,72
	0,68			0,52		

D'après les Rf, notamment dans les solvants de EGGER, de PARTRIDGE et l'acide acétique à 15 %, il s'agirait surtout d'hétéromonosides et biosides.

A partir de 0,60 g d'extrait acétate d'éthyle provenant de 70 g de

tiges feuillées, a été tentée une séparation des flavonosides sur colonne de polyamide (h = 650 mm ; d = 15 mm), l'élu-tion a été faite par le mélange : benzène-méthyléthylcétone-méthanol (100-50-50 v/v). La composition des portions d'éluat (10 ml) a été suivie par chromatographie sur couche mince en utilisant comme solvant l'acide acétique à 15 % et comme révélateur le chlorure d'aluminium.

Cinq fractions dénommées F₁, F₂, F₃, F₄ et F₅ ont pu être ainsi séparées — au début de l'élu-tion ont été caractérisés des acides-phénols et une génine libre identifiée au quercétol. Une deuxième opération a été effectuée sur 60 g de plante et a abouti à des résultats identiques — les fractions insuffisamment pures ont été soumises à un deuxième traitement en chromatographie préparative sur couche mince de cellulose.

Les caractéristiques des produits isolés sont les suivantes :

F₁ se comporte comme un bioside en chromatographie sur papier : R_f : 0,40 (eau) 0,64 (S₁ acide acétique à 15 %) 0,57 (solvant de Partridge S₂) et en chromatographie sur couche mince de polyamide : 0,20 (solvant S₅ : benzène-méthanol-méthyléthylcétone 100-50-50). Il fournit les réactions colorées des flavones (jaune orangé avec ClH + Mg) et des orthodiphénols (coloration orangée avec le sous-acétate de plomb). Le spectre ultraviolet est voisin de celui de la lutéoline :

λ max (méthanol)	: 348-268-254-240* (épaulement)
+ AlCl ₃	: 422-328-300*-275
+ Acétate Na	: 400-330*-280*-270
+ Acétate Na + ac. borique	: 400-374-262.

L'hydrolyse acide (H₂SO₄N — 2 h au bain-marie bouillant) donne, non pas une génine soluble dans l'éther, mais un 2° hétéroside soluble dans l'éther acétique et surtout le butanol, qui a été identifié en cochromatographie à l'*isoorientine*. Dans la liqueur aqueuse, neutralisée au carbonate de baryum, a été mis en évidence du rhamnose. F₁ serait donc une *rhamnosylisoorientine* ; d'après les spectres U. V. indiquant que tous les OH sont libres, le rhamnose se trouverait sur la chaîne glycosyle.

— Les R_f de F₂ sont ceux d'un monoside : 0,04 pour eau, 0,20 pour S₁ ; 0,43 pour S₂ en chromatographie sur papier (CP) ; 0,08 (S₅) et 0,18 (S₆) en chromatographie sur couche mince (CCM) de polyamide. Les réactions colorées sont en faveur d'une flavone à fonction O-diphénol. Le spectre ultraviolet est à rapprocher de celui de la lutéoline :

λ max (méthanol)	: 349-286*-269-255
+ AlCl ₃	: 422-332-300-274
+ Acétate de Na	: 400-330*-270
+ Acétate + ac. borique	: 374-260.

Ce produit qui existe en très faible quantité n'est pas modifié par hydrolyse acide : il s'agirait d'un mono C-glucoside du groupe de l'orientine.

F_3 possède les Rf suivants :

a) chromatographie papier : eau : 0,10 ; ac. acétique 15 % (S_1) : 0,38 ; butanol acétique (S_2) : 0,57 ;

b) CCM de polyamide : 0,08 (benzène-méthanol-méthyléthylcétone (S_5) et 0,16 (solvant S_6) de EGGER).

On se trouve en présence d'un hétéromonoside fournissant les réactions colorées d'un flavonol.

Le spectre ultraviolet est voisin de celui du quercétol :

λ max (méthanol)	: 354-268*-256
+ $AlCl_3$: 424-304*-272
+ Acétate de Na	: 592-320*-270
+ Acétate de Na + ac. borique	: 376-260.

Cette substance est hydrolysable par l'acide sulfurique N : par l'éther, est extraite une génine qui, d'après son spectre ultraviolet et ses Rf par rapport à un témoin, a été identifiée au quercétol. Dans la liqueur acide neutralisée par le carbonate de baryum a pu être caractérisé en chromatographie sur couche mince du glucose. F_3 serait donc du quercétol-3 glucoside ou isoquercitrin (oside).

F_4 a les constantes suivantes : Rf en chromatographie sur papier (CP) eau : 0,10 ; S_1 : 0,35 ; S_2 : 0,47 ; en CCM (polyamide) S_5 : 0,06 ; S_6 : 0,36 ; pF (appareil REICHERT) 238°.

Spectre ultraviolet :

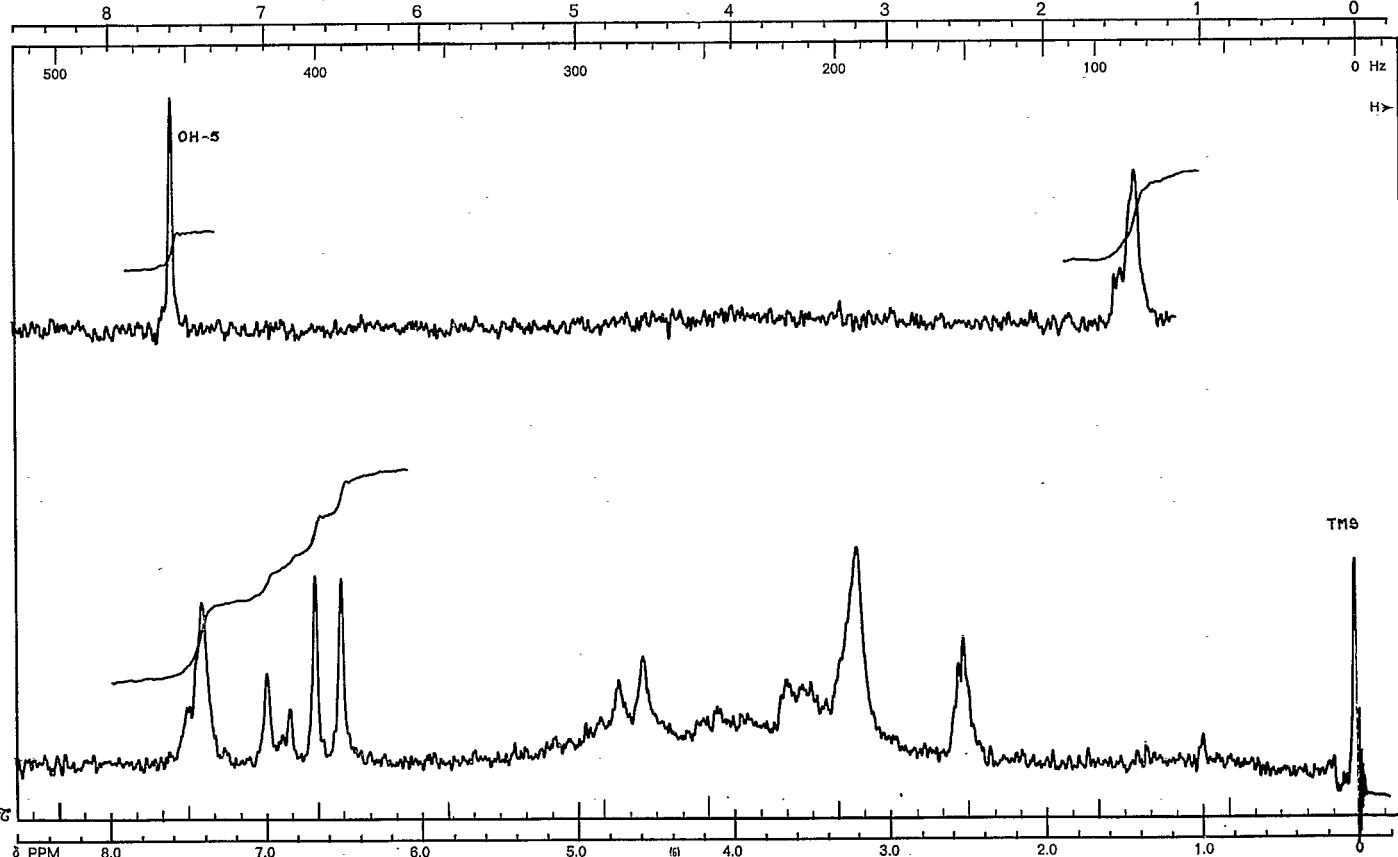
max	: 346-290*-270-256
+ $AlCl_3$: 424-330-304*-276
+ Acétate de Na	: 396-324*-272
+ Acétate de Na + ac. borique	: 372-260-430

Les réactions colorées sont celles des flavones et des o-diphénols. Cette substance n'est pas hydrolysable par les acides. Les Rf sont ceux d'un mono C-glucoside qui, par chromatographie avec un témoin a été identifié à l'homorientine ou 6-C β -D glucopyranosyl-lutéoline (l'hydrolyse acide prolongée fournit une 2^e tache d'orientine). Cette structure a été confirmée par le spectre RMN dans le DMSO (fig. 1).

F_5 peut être purifiée par recristallisation dans de l'alcool à 50°. Cette substance jaune orangé cristallise en aiguilles, le pF est de 200° (bloc Maquenne).

δ PPM

CHART 60 MC/BV



— 272 —

MANUAL AUTO

SWEEP OFFSET (Hz): 360 SWEEP TIME (SEC): 50 (250)

SPECTRUM AMPLITUDE: 80 SWEEP WIDTH (Hz): 25 50 100 250 (500)

INTEGRAL AMPLITUDE: 200 FILTER: 1 2 (3) 4 5 6 7 8

SPINNING RATE (RPS): 40 RF POWER LEVEL: _____

SAMPLE: Hétéroside F4 REMARKS: _____
= Isoorientine

SOLVENT: D.M.S.O. d6 / T.M.S.

TEMPERATURE: _____

DATE: 27-06-76

OPERATOR: F.T.

60 MHz NMR
SPECTRUM NO: _____

2nd IRR. FRQ. A: _____ B: _____ C: _____

FIG. 1 — Spectre RMN de l'hétéroside F₄ dans le DMSO (appareil Varian T. 60).

Les Rf sont les suivants : eau : 0,03 ; S₁ : 0,15 ; S₂ : 0,28 ; S₅ : 0,05 et S₆ : 0,11.

Spectre ultraviolet :

max (méthanol)	: 334-300*-268*-252
+ AlCl ₃	: 422-352-304*-274
+ Acétate de Na	: 382-272
+ Acétate de Na + ac. borique	: 360-302-260.

L'hydrolyse acide fournit du *quercétol* (Rf : 0,36 dans l'acide acétique à 60 %, 0,78 dans le butanol acétique, 0,46 avec le solvant de Forestal). Spectre ultraviolet λ max (méthanol) 370-328*-254 285*-264*). Celui-ci précipite au cours de l'hydrolyse acide — la liqueur acide est épuisée par l'éther et le résidu d'évaporation est étudié en CCM de cellulose dans l'acide acétique — on sépare ainsi une substance brun mat qui est un produit d'oxydation du quercétol et une substance à fluorescence bleue ressemblant à un acide-phénol de la série cinnamique. Pensant avoir affaire à un dérivé acylé, nous avons soumis F₅ à une hydrolyse alcaline : 1 heure de contact avec la soude N, puis acidification et épuisement à l'éther.

Cet éther évaporé, repris par quelques gouttes d'alcool est examiné en CCM de cellulose. Dans l'acide acétique à 2 % on trouve une tache principale de même fluorescence et de même Rf que l'acide caféique (trans), une deuxième tache très faible correspond à l'isomère cis.

Après hydrolyse alcaline et séparation de l'acide caféique, existe dans la solution aqueuse un autre hétéroside de quercétol, qui, d'après les Rf dans divers solvants : de EGGER, acide acétique à 15 %, butanol acétique, correspondrait à un hétérobioside ; après hydrolyse acide prolongée, on n'obtient que du glucose — il s'agirait donc d'un diglucoside. D'après les Rf : 0,46 dans l'acide acétique à 15 % — 0,38 dans le solvant de Partridge, 0,40 dans le solvant de EGGER, cet hétéroside désacylé correspondrait au quercétol-3 gentiobioside.

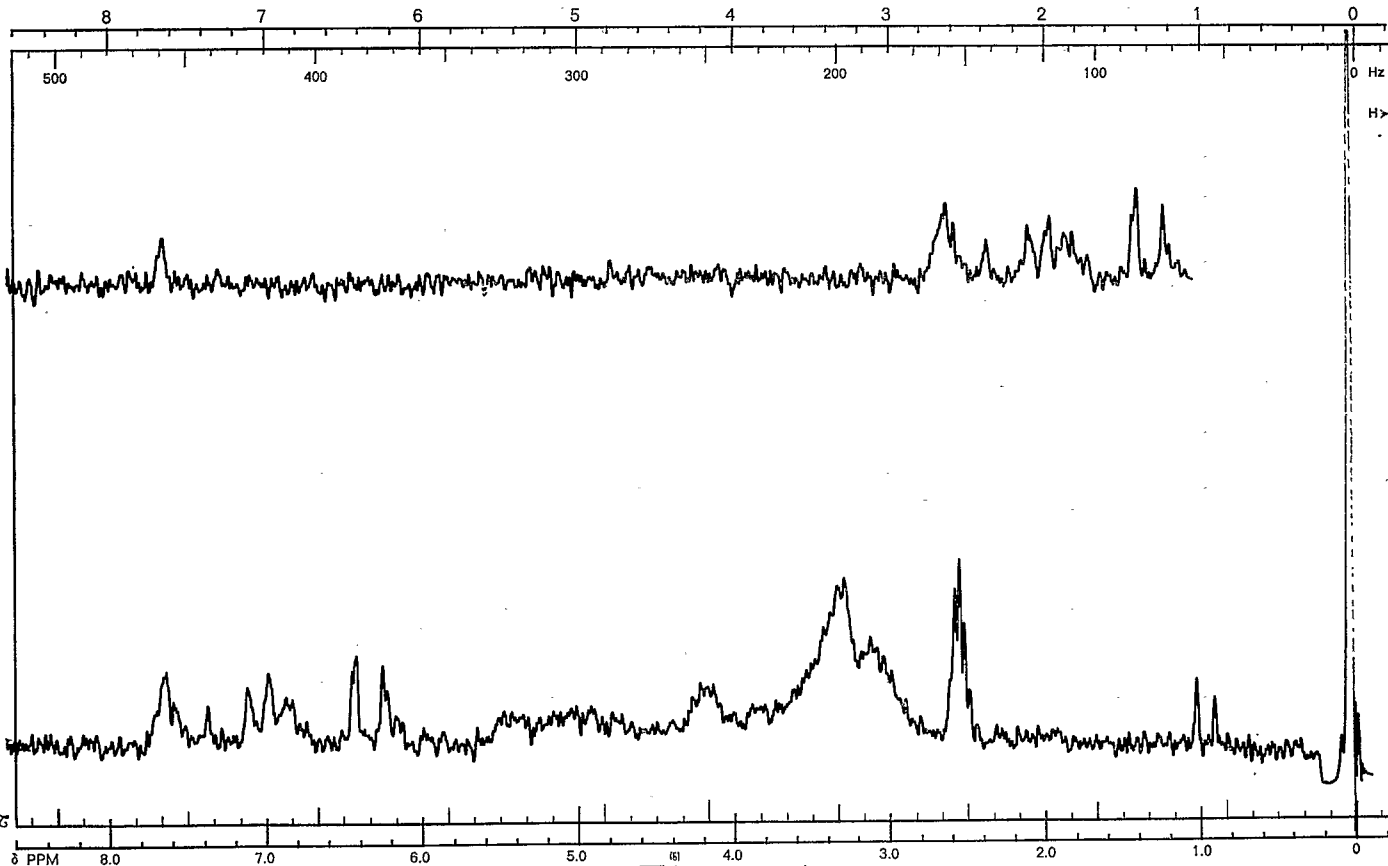
Des études sont en cours afin de préciser la nature exacte de ce bioside. Il est à noter que de petites quantités de ce dérivé désacylé, dénommé F₆, existent dans la plante.

F₅, obtenu à l'état cristallisé, correspondrait donc à un flavonoside acylé ou caféyldiglucoside de quercétol, ce qui est en accord avec le spectre RMN au point de vue des protons aromatiques et ceux de la liaison éthylénique de l'acide caféique (fig. 2).

En résumé : six hétérosides flavoniques ont été séparés des tiges feuillées de *Xyris semifuscata*. Ils appartiennent à des séries différentes F₁, F₂, F₄ sont des dérivés de flavone, en particulier de la lutéoline, existant sous forme de mono C glucoside. F₄ a été identifié à l'homo-orientine, F₂ serait un composé analogue (isomère ?). F₁ se comporte

δ PPM

CHART 60 MC/BV



— 274 —

MANUAL AUTO

SWEEP OFFSET (Hz): 300 SWEEP TIME (SEC): 50 (250)

SPECTRUM AMPLITUDE: 100 SWEEP WIDTH (Hz): 25 50 100 250 (500)

INTEGRAL AMPLITUDE: _____ FILTER: 1 2 (3) 4 5 6 7 8

SPINNING RATE (RPS): 50 RF POWER LEVEL: _____

(250)
(500)
(2)
(.05)

SAMPLE: Hétéroside F5 REMARKS: _____

SOLVENT: D.M.S.O. d₆ / T.M.S.

TEMPERATURE: _____

DATE: 27.06.76

OPERATOR: F.T.

60 MHz NMR
SPECTRUM NO: _____

comme un O-hétéroside de mono C glucoside : ce serait une O-rhamnosylisoorientine.

F₃, F₅ et F₆ sont des dérivés de flavonol fournissant tous du quercétol par hydrolyse acide. F₃ est un monoside identifié à l'isoquercitroside. F₅ est un hétérobioside acylé (sur un glucose) par l'acide caféique. F₆, le bioside désacylé de quercétol.

Au point de vue chimiotaxinomique, les Xyridacées constituent une petite famille de Monocotylédones dont la position est assez discutée en botanique systématique. Elle a été rattachée, suivant les auteurs [4] aux Commélinacées (Liliflores), aux Juncales (Apocarpées), aux Graminées ; la présence de quinones [8] les rapprocherait des Liliacées.

L'existence de quercétol est trop banale pour en tirer des conclusions précises.

Les C-flavonoïdes sont assez fréquents chez les Monocotylédones, surtout aquatiques [1] [3], ils ont été signalés en particulier chez certaines Commélinacées et Juncacées, l'isoorientine a été trouvée chez des Graminées notamment *Briza media*.

Bien que d'autres expériences complémentaires soient nécessaires, les Xyridacées paraissent être une famille bien individualisée chez les Monocotylédones.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BOUTARD (B.). — Thèse de Doctorat de spécialité, n° 136. Université Claude BERNARD, Lyon, 1972.
- [2] FOURNIER (G.), BERCHT (C. A.), PARIS (R. R.) et PARIS (M. R.). — *Phytochem.*, 1975, **14**, 2099.
- [3] HARBORNE (J. B.), MABRY (T. J.) et MABRY (M.). — *The flavonoïds*. Chapman and All, Londres, 1975.
- [4] HEGNAUER (R.). — *Chemotaxonomie der Pflanzen*. Tome II : Monocotylédones. Birkhäuser Verlag, Bâle, 1963.
- [5] PARIS (R.), JACQUEMIN (H.) et LINARD (A.). — *Plantes méd. et Phyto.*, 1975, **9**, 230.
- [6] PARIS (R.) et NOTHIS (A.). — *Plantes méd. et Phyto.*, 1970, **4**, 63.
- [7] PERRIER DE LA BATHIE (H.). — 35^e famille : Xyridacées, dans H. HUMBERT : *Flore de Madagascar et des Comores* (1946).
- [8] THOMSON (R. H.). — *Naturally occurring quinones*, 2^e édit. Academic Press Londres, 1971.