

LES FLAVANS : CARACTERISATION ET SEPARATION

Les cabosses des deux types sont riches en composés polyphénoliques allant de l'épicatéchine à des substances hautement polymérisées.

Ils peuvent être séparés en trois groupes : les catéchines, les leuco-cyanidines monomères ou dimères, et enfin les flavans hautement polymérisés désignés sous le nom de "tanins condensés". Les premiers sont extraits d'une solution aqueuse par l'éther, les seconds par l'acétate d'éthyle, les produits très condensés restent en solution aqueuse (7).

Nous allons montrer à l'aide des figures de la planche I, ces trois catégories de substances de solubilité différente.

Si on procède à une hydrolyse vigoureuse de la couche acétate d'éthyle il se produit une coloration rouge vin, tout à fait différente de la couleur rouge brune obtenue, lorsque l'extrait total est traité dans les mêmes conditions. Le pigment est la cyanidine. Il se conserve fort bien alors qu'il se détruit rapidement dans l'extrait complet ou dans la phase aqueuse.

Aucune coloration appréciable n'apparaît quand on procède à une hydrolyse douce. Il y a dans ce cas formation d'un mélange de catéchine et d'épicatéchine. Il apparaît des produits polymérisés qui augmentent avec le temps.

Les schémas de la planche II vont nous permettre de suivre ces différents phénomènes.

Il semble que dans cette phase acétate d'éthyle se trouve une substance déjà mise en évidence par FORSYTH dans les graines non fermentées de Theobroma cacao (3). Ce composé serait formé d'une molécule d'épicatéchine et d'une molécule donnant par hydrolyse forte de la cyanidine. La facilité avec laquelle se fait l'hydrolyse indique que la liaison est très labile.

Les considérations des propriétés chimiques et physiques ont conduit cet auteur à envisager deux structures possibles, dans lesquelles, les deux unités en C_{15} seraient unies par des liaisons de type acétal entre les groupes hydroxylés alcooliques (4).

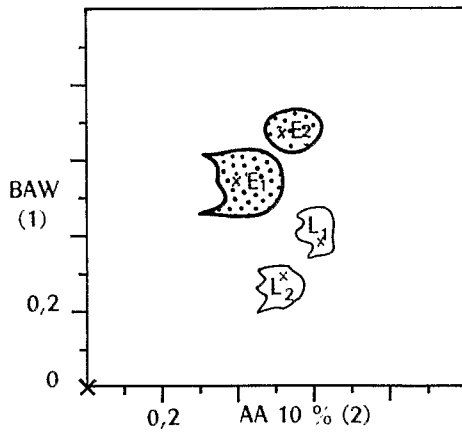
../..

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

N° : 22596

Cpte : B

Figure 1



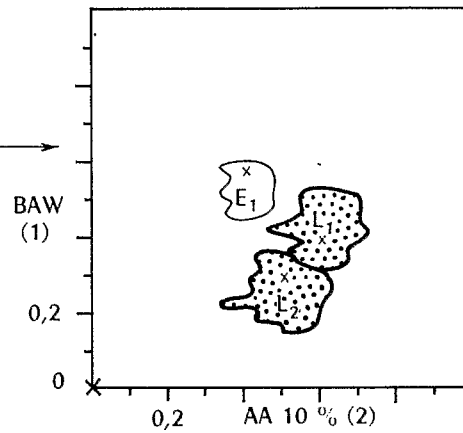
Fraction étherée

E_1 = épicatechine

E_2 = catéchine

L_1 et L_2 = traces de leucocyanidines peu polymérisées

Figure 2

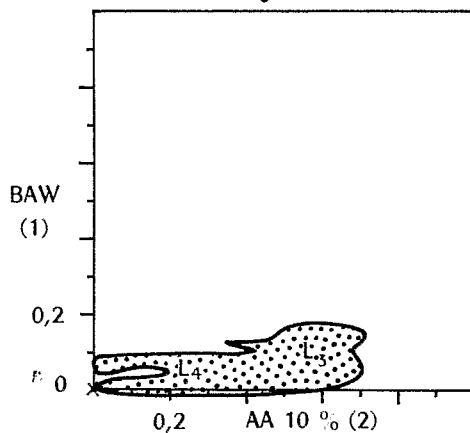


Fraction acétate d'éthyle

E_1 = trace d'épicatechine

L_1 et L_2 = leucocyanidines peu polymérisées

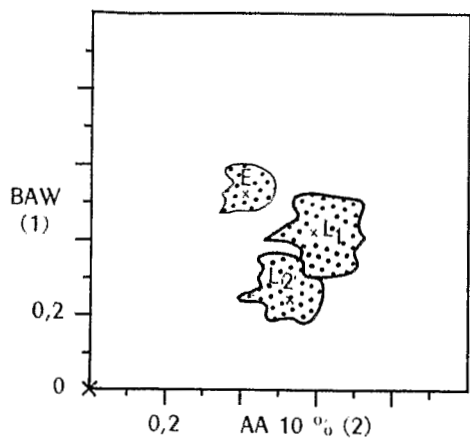
Figure 3



Reste aqueux

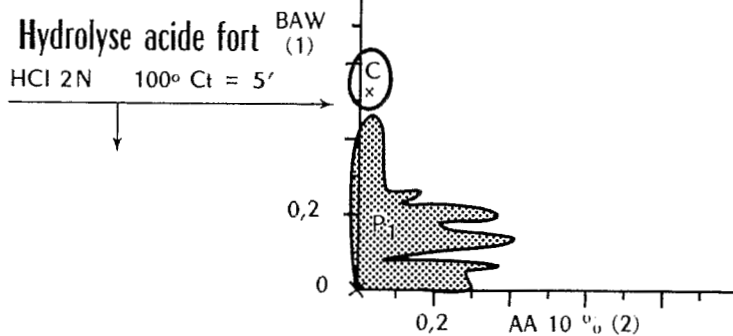
L_3 et L_4 = Leucocyanidines très polymérisées

Figure 1



Fraction acétate d'éthyle

Figure 2



Fraction acétate d'éthyle soumise à une hydrolyse forte

C = cyanidine

P₁ = produits polymérisés

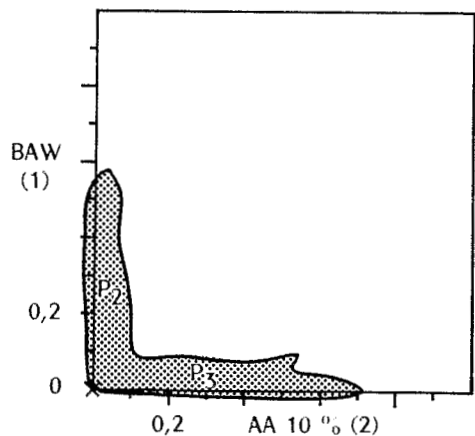
hydrolyse acide douce

HCl 0,1N 100° C

t = 5'

t = 5'

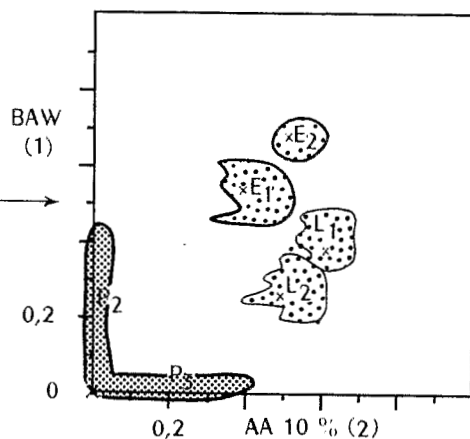
Figure 4



Fraction acétate d'éthyle soumise à une hydrolyse douce, le temps est supérieur à 5'

P₂ et P₃ = produits polymérisés augmentant avec le temps

Figure 3



Fraction acétate d'éthyle soumise à une hydrolyse douce pendant 5'

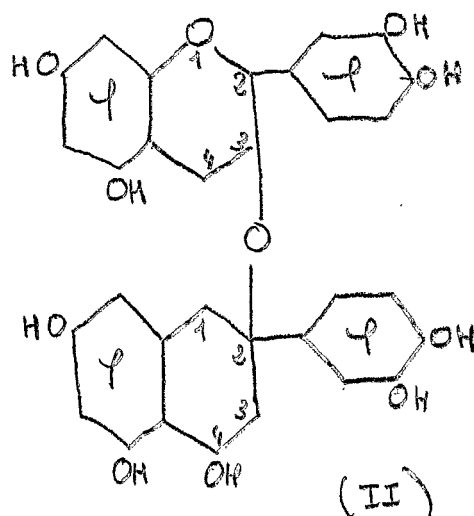
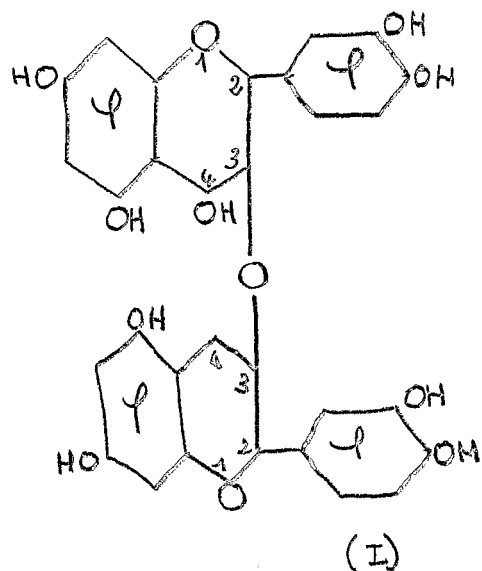
E₁ = épicatechine

E₂ = catéchine

L₁ et L₂ = leucocyaninidines
diminution nette

P₂ et P₃ = produits polymérisés

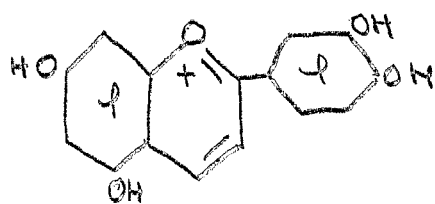
Voici ces deux structures possibles:



- I)- liaison entre le OH du flavan-3-ol et le C₃ du flavan-3-4 diols
 II)- liaison entre le OH du flavan-3-ol et le C₂ du flavan-3-4 diols.

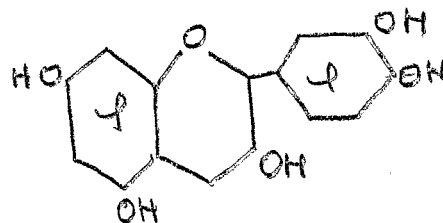
hydrolyse H⁺

dimère



cyanidine

+



épicatechine

L'apparition de catéchine a été également mise en évidence par FORSYTH (3). Celui-ci a constaté que l'épicatechine traitée sous des conditions similaires produit 16% de catéchine (3). Il y a une isomérisation partielle d'épicatechine en catéchine.

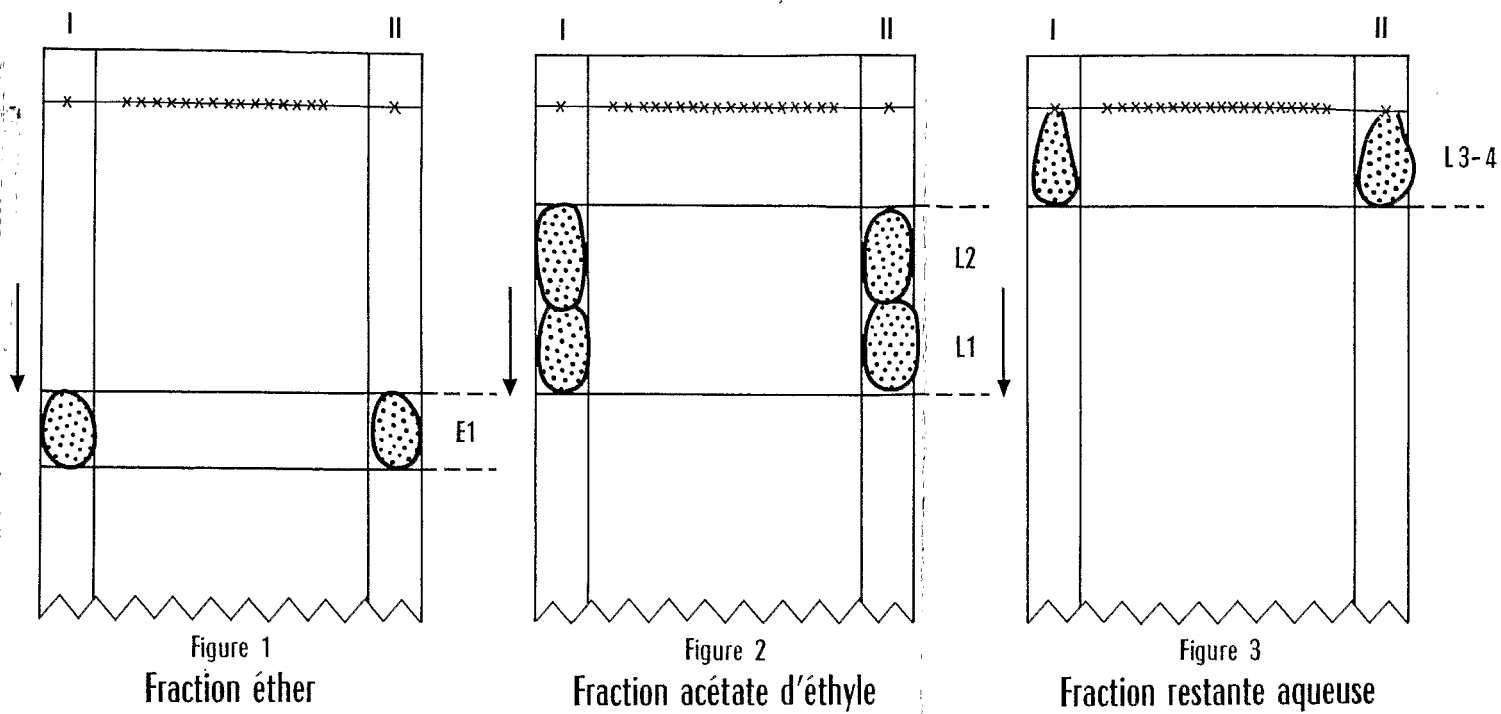
De telles substances ont été également isolées de Crataegus oxyacantha par FREUDENBERG et WEINGES (5), de Gleditschia par ces mêmes auteurs (6), des pommes à cidre par WILLIAMS (9), des graines d'avocats par GEISSMAN et DITTMAR (8).

Quelle est la substance dans la fraction acétate d'éthyle qui possède cette structure ? Si nous en croyons FORSYTH, ce serait la leucyanidine la plus mobile dans les deux solvants (4). Nous rappelons que L1 réagit avec la polyphénol-oxydase (cf. rapport de 1964). Il sera nécessaire de procéder à des éluions de chacun de ces composés.

Expérimentation.

Les extraits primitivement méthanoliques sont mis à sec, repris par de l'eau et débarrassés des chlorophylles et caroténoïdes par de l'éther de pétrole (cf. rapport de 1964). Ils sont ensuite épuisés par l'éther, puis par l'acétate d'éthyle. Ces deux phases sont mises à sec et reprises la première par l'éthanol, la seconde par l'éthanol et l'eau (I/I). La séparation des substances a été faite par chromatographie sur papier en deux dimensions (cf. rapport de 1964). Nous avons utilisé parallèlement et avec succès la chromatographie sur plaques (silicagel-chloroforme/acétate d'éthyle/ acide formique 5/4/I) (II). La détection a été faite à l'aide des réactifs suivants: vanilline -HCl (I), acide p-toluène sulfonique 3% aqueux (IO), (voir rapport de 1964).

L'éluion des substances (E₁ -L₁ -L₂- L₃-L₄) a été envisagée. Les solvants les plus efficaces sont: butanol/ acide acétique / eau -4/I/5 (1). et alcoolamylique / acide acétique / eau-4. /I/5 (2). Nous procéderons de la façon suivante .



Les bordures I et II sont découpées et révélées à l'aide des réactifs, il est alors facile de localiser les produits sur le chromatogramme restant et de procéder à des éluions séparées.

REFERENCES

- I°) BATE-SMITHE C. - The commoner phenolice constituents plants, and their systematic distribution . 1956 , Sci, Proceed of the Royal Dublin.
- 2) FORSYTH W.G.C. - Biochem. J. 1952 , 51, 516.
- 3) FORSYTH W.G.C. - Nature , 1953, 172, 726.
- 4) FORSYTH W.G.C. et ROBERTS J.B. - Biochem. J. 1960, 74 , 374.
- 5) FREUDENBERG K. et WEINGES K. - Tetrahedon Letters, 1961, 8, 267.
- 6) FREUDENBERG K. et WEINGES K. - Angew. Chem. 1962, 74, 182.
- 7) GRISSMAN T.A. - The chemistry of flavonoid compounds , 1962 , 8.
- 8) GRISSMAN T.A. et DITTMAR H.E.K. - Phytochemistry , 1965, 4, 359.
- 9) PRIDHAM J.B. - Phénolics in plants in health and disease , 1960, 3.
- 10) ROUX D.G. - Nature , 1957 , 180 , 973.
- II) STAHL E. et SCHORN P.L. Hoppe Seyler's physiol , chem, 1961 , 325.