

**SUR LES FLAVONOÏDES DU *FAGARA LAURENTII* De Wild.
ISOLEMENT D'UNE FLAVANONE IDENTIFIÉE
A L'HESPÉRIDOSIDE**

par M. PARIS, A. BOUQUET et R. PARIS (*) (**)

(Laboratoire de Matière médicale, Faculté de Pharmacie de Paris)

Dans le cadre d'une mission de l'Office de la Recherche scientifique et technique Outre-Mer (O. R. S. T. O. M.) au Congo-Brazzaville en 1968, ont été envoyés au laboratoire de Matière médicale de la Faculté de Pharmacie de Paris des échantillons d'écorces d'un *Fagara* récoltées par l'un de nous (A. B.) dans la région de Brazzaville (herbier, n° 1701, espèce ripicole, rive droite de la Sangha).

Les *Fagara* africains ont déjà fait l'objet, dans ce même laboratoire, de recherches chimiques (4, 5, 6, 7, 8) portant sur les alcaloïdes. Les échantillons examinés appartiennent à une espèce qui, à notre connaissance, n'a pas encore été étudiée au point de vue chimique : il s'agit du *Fagara Laurentii* De Wild. (détermination botanique de R. LETOUZEY).

Comme beaucoup de *Fagara* africains, cette espèce est utilisée contre les maux de dents : le traitement est à peu près le même dans tout le Congo : mâcher un morceau d'écorce ou se laver la bouche avec le décocté. Si besoin est, appliquer sur la dent malade un petit fragment des écorces ou des épines qui ornent le tronc. Cet usage est en rapport avec une action analgésique et révulsive de la drogue ; d'ailleurs la pulpe est quelquefois employée pour frictionner les malades dans le cas des maux de reins, spasmes musculaires, etc. Comme aphrodisiaque, il est recommandé de mâcher les écorces avec des noix de Kola et des graines de Maniguette. Les *Fagara* sont également prescrits aux hommes comme antiblennorragique et aux femmes contre les troubles ovariens. Enfin, certains féticheurs utilisent aussi les écorces pour soigner les hématuries, les diarrhées dysentériques et autres affections gastro-intestinales.

Au cours d'essais préliminaires, ont d'abord été examinées les substances polyphénoliques et notamment les flavonoïdes, en attendant des

(*) Avec la collaboration technique de M^{lle} S. MALET.

(**) Manuscrit reçu le 28 mars 1969.

recherches plus approfondies sur la composition chimique, particulièrement en ce qui concerne les alcaloïdes et une substance irritante déjà signalée chez d'autres *Fagara* (6, 7, 8).

Au point de vue botanique, le *Fagara Laurentii* De Wild. est un arbre épineux et glabre, originaire du Congo (9). « Les feuilles sont grandes, pennées, à 8-10 paires de folioles, à rachis de 30 à 50 cm de long, à épines peu nombreuses de 4 mm environ de long. Les folioles sont subopposées ou franchement alternes, courtement pétiolulées, à limbe plus ou moins coriace, luisant sur les deux faces, plus pâle en dessous qu'en dessus, ovale-elliptique, arrondi ou subcordé à la base, courtement acuminié, aigu au sommet, entier, à bord légèrement ourlé ; folioles inéquilatérales, les inférieures les plus petites ; nervures latérales au nombre d'une dizaine environ, se bifurquant vers le milieu de la feuille et s'anastomosant en arc très accusé.

Panicule axillaire, de 15 à 25 cm de long, fortement ramifié, à rameaux latéraux atteignant 12 cm de long, à rachis munis d'épines épaisses, droites, atteignant 4 mm de long. Fleurs disposées en fascicules le long des ramifications secondaires du rachis, à pédicelle de moins de 1 mm de long, bractéolé à la base. Fleurs à calice court, à 5 sépales ovales, aigus ; pétales oblongs, glabres, de 3 mm environ de longueur. »

Nous avons eu à notre disposition des écorces de racines et de tiges. Les *écorces de racines* sont minces (1 à 2 mm) et recouvertes irrégulièrement d'un suber jaune crevassé ; la face interne est beige, fibreuse.

En lumière U. V., le suber présente une fluorescence jaune vif intense ; une légère fluorescence bleue est observée pour la face interne à 254 nm. L'odeur est aromatique, la saveur d'abord amère devient rapidement brûlante. La mastication provoque une sensation de picotement de l'extrémité de la langue suivie d'anesthésie (comme chez *F. xanthoxyloides* et *F. macrophylla* (6, 8). Les *écorces de tige* se présentent en gros fragments d'environ 0,5 cm d'épaisseur. Elles sont striées longitudinalement, de couleur brun grisâtre, avec des petites taches jaunes rares et éparées ; elles sont couvertes d'épines coniques. La face interne est beige plus ou moins foncé, la cassure est fibreuse.

En lumière U. V., on observe de petites taches qui sont fluorescentes jaune vif ; une fluorescence intense est obtenue pour la face interne (à 254 nm). L'odeur est faible, peu aromatique, la saveur est légèrement amère puis un peu brûlante.

ETUDE CHIMIQUE

Les *Fagara* africains ont fait l'objet de plusieurs travaux, particulièrement en ce qui concerne les alcaloïdes [PALMER K. H. (4) (5)].

En dehors du contenu alcaloïdique, d'une saponine, d'une petite quantité d'huile essentielle, plusieurs principes bien définis ont été isolés de *Fagara* ; un lignane : le fagarol ou D. sésamine, des amides : fagaramide

et un amide non saturé, qui représente le principe piquant puis anesthésique, isolé en 1963 par BOWDEN et ROSS (3).

1) ESSAIS PRÉLIMINAIRES.

Ils ont été effectués sur les écorces de tiges et les écorces de racines. Pour cela ont été préparés une teinture au 1/5 et un infusé à 10 % des drogues, en outre a été réalisé un épuisement à l'appareil Soxhlet par les solvants successifs et de plus en plus polaires (éther de pétrole, chloroforme, éther, acétate d'éthyle, acétone, méthanol).

Sur les solutions extractives et les précipités obtenus par concentration, ont été effectuées des réactions d'identité en tube à essai et des chromatographies (sur papier Whatman n° 1) dans le butanol acétique de Partridge, avec différents révélateurs. Les résultats sont analogues pour les écorces de racines et les écorces de tiges.

a) *Caractérisation des alcaloïdes.*

Les réactifs de DRAGENDORFF, MAYER, BERTRAND donnent des réactions fortement positives, aussi bien avec les extraits bruts en milieu acide qu'après purification en milieu alcalin (ammoniaque et éther chloroforme 3-1) et reprise par de l'eau chlorhydrique à 5 p. 100.

En chromatographie sur papier, après révélation par le réactif de DRAGENDORFF, on distingue plusieurs taches dont trois plus importantes de $R_f = 0,40-0,70$ et $0,90$; avec les extraits éthéro-pétroliques, on trouve surtout la tache de $R_f = 0,90$.

b) *Polyphénols.*

En tube à essai, on obtient une coloration vert-brun avec $Fe Cl_3$ (tanin catéchique ou catéchine); le formol chlorhydrique produit un léger précipité. La réaction de la cyanidine ($HCl + Mg$) est fortement positive et de couleur violette, indiquant la présence de *flavanones*.

La réaction de caractérisation des leucoanthocyanes (propanol chlorhydrique) est négative.

En chromatographie sur papier, avec le chlorure d'aluminium comme révélateur, on observe plusieurs taches de couleur jaune ou jaune-brun ($R_f = 0,20$; $0,50$; $0,60$; $0,80$ dans le butanol acétique).

Avec le borohydrure de potassium, apparaît au $R_f 0,45$ une tache mauve (flavone); la pulvérisation de $Fe Cl_3$ donne une tache prédominante de couleur gris-bleu et de $R_f 0,40$.

Coumarines: l'infusé présente une fluorescence bleue et la teinture une fluorescence jaune; en chromatographie sur papier (avec le butanol acétique) sont obtenues deux taches ($R_f = 0,55$ et $0,90$) bleu-violet en lumière ultraviolette, virant au bleu-vert après révélation par la potasse alcoolique.

c) Substances diverses.

Les réactions de caractérisation des hétérosides cyanogénétiques (papier micro-sodé) et des saponosides (indice mousse) sont négatives.

Une faible quantité d'huile essentielle a été séparée par entraînement à la vapeur d'eau, dans l'appareil normalisé de la Pharmacopée française 1965 ; la teneur est voisine de 0,70 p. 100 ; par refroidissement cette essence fournit une fraction cristalline. Ces cristaux de P. F. 46° (bloc Maquenne) sont très solubles dans l'éther et le méthanol et possèdent les propriétés piquantes de l'écorce.

Dans la fraction éthéro-pétrolique obtenue au Soxhlet sont apparus, après concentration, des cristaux blanc jaunâtre, qui ont été purifiés par reprise par l'alcool à 96° bouillant. Ces cristaux sont recueillis, ils ont un point de fusion de 82° (bloc Maquenne), ils donnent une coloration rouge-vineux avec l'acide sulfurique concentré, virant au bleu par addition de sulfomolybdate d' NH_4 : il s'agit vraisemblablement du *fagarol* ou D sésamine.

d) A la suite de ces essais, nous nous sommes tout d'abord limité dans ces recherches à l'étude plus approfondie des flavonoïdes ; des travaux sont en cours pour préciser ultérieurement la nature des autres constituants chimiques (alcaloïdes, coumarines, essence, substance irritante).

2) ETUDE DES FLAVONOÏDES.

Ceux-ci ont été préparés en utilisant un appareil de Soxhlet, par la méthode dite des solvants successifs. Après concentration convenable des liqueurs extractives on obtient des précipités dans les extraits par l'acétate d'éthyle, l'acétone et le méthanol.

Pour 100 g d'écorces de racines, les rendements sont les suivants : dans l'acétate d'éthyle 37 mg, l'acétone 37 mg, le méthanol 130 mg.

Pour 100 g d'écorces de tiges, on a dans l'acétate d'éthyle 161 mg, l'acétone 85 mg, le méthanol 691 mg.

En chromatographie sur papier, dans le butanol acétique de Partridge (415), on obtient pour tous les précipités une seule tache violette avec le borohydrure de K, de Rf 0,45 (flavanone), accompagné de faibles quantités de substances révélables par le réactif de DRAGENDORFF (alcaloïdes).

ETUDE DES PRÉCIPITÉS.

Les précipités bruts ainsi obtenus, et constitués par un mélange de flavanones et d'alcaloïdes, sont tout d'abord purifiés, afin d'éliminer ces derniers, par plusieurs lavages par l'acide acétique à 2 %, puis par l'eau. A partir de 200 mg de produit brut on obtient ainsi 113 mg de précipité ne renfermant plus de substance révélable en chromatographie par le réactif de DRAGENDORFF.

A) HYDROLYSE.

Le Rf en chromatographie et la couleur obtenue avec le borohydrure de K étant en faveur d'un hétéroside, nous avons procédé à une hydrolyse acide ; celle-ci a été réalisée au B. M. bouillant pendant 2 heures avec H₂ SO₄ N ; après refroidissement, on sépare par centrifugation surnageant et précipité.

1) Etude de la liqueur surnageante (oses).

Après épuisement par l'éther, on neutralise par Ba₂ CO₃, puis centrifuge. Après filtration, la solution évaporée à sec est reprise par la quantité suffisante d'eau pour l'identification des sucres en chromatographie sur couche mince par rapport à des témoins (support Kieselgel G, solvant : butanol, isopropanol, eau : 5, 3, 1, v/v) révélateur : phosphate d'aniline) : on observe des taches au niveau du *glucose* et du *rhamnose*.

2) Etude du précipité et de la solution d'épuisement éthéré (génine).

L'étude est réalisée par chromatographie sur papier avec plusieurs solvants et des témoins de flavanones : naringétol, hespérétol, ériodictyol, homoériodictyol.

Solvants :

- 1) Eau distillée.
- 2) N. butanol-acide acétique-eau (4-1-5 v/v).
- 3) Acide acétique-eau (15-85 v/v).
- 4) Acide acétique-eau (60-40 v/v).
- 5) Butanol-ac. acétique 27 % (1-1 v/v).
- 6) Benzène-ac. acétique-eau-nitrométhane (34-32-5-18 v/v) (1).

SOLVANTS	HESPÉRÉTOLE	NARINGÉTOLE	ÉRIODICTYOLE	HOMOÉRIODICTYOLE	GÉNINE du Fagara
(1)	0,05	0,10	0,10	0,10	0,05
(2)	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95
(3)	0,30	0,40	0,40	0,40	0,30
(4)	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
(5)	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95
(6)	0,85	0,75	0,55	0,85	0,85

Le spectre ultraviolet est superposable à celui de l'hespérétol témoin : on obtient un pic à 288 nm avec un épaulement à 326 nm.

3) Conclusion.

Après hydrolyse, la flavanone est décomposée en glucose et rhamnose ; la génine présente les mêmes Rf et le même spectre U. V. que l'hespérétol.

B) ETUDE DE L'HÉTÉROSIDE.

1) Essais de cristallisation.

— L'élimination des traces d'alcaloïdes est obtenue par ébullition du précipité brut dans l'alcool à 40° bouillant, additionné de 1 ml d'acide acétique à 25 %.

Après filtration, on obtient un précipité qui est traité de la même manière jusqu'à élimination totale des alcaloïdes (réaction de DRAGENDORFF négative en tube à essai).

— La cristallisation est obtenue alors facilement dans l'alcool à 60° après repos de 24 h. à la température de laboratoire : en partant de 600 mg de produit brut on obtient 115 mg de poudre cristalline blanc-crème qui est soumise à différents essais d'identification.

Le point de fusion instantané est de 268-269° (bloc Maquenne) et 261° (appareil de Reichert) ; le pouvoir rotatoire est lévogyre, $\alpha_D = -84^\circ$ [détermination sur une solution à 1 p. 100 dans le mélange pyridique-méthanol (1-1)].

Cette substance est insoluble dans l'acétone, le benzène, le chloroforme, peu soluble dans l'eau froide et le méthanol, soluble dans la pyridine et le diméthylformamide.

2) Chromatographie sur papier (révélation borohydrure de K).

SOLVANTS	NARINGOSIDE	HESPÉRIDOSIDE Rf	FLAVANOSIDE du <i>Fagara</i>
(1)	0,60 rose orangé	0,55 mauve	0,55 (mauve)
(2)	0,55 rose orangé	0,45 mauve	0,45 (mauve)
(3)	0,75 rose orangé	0,75 mauve	0,75 (mauve)
(4)	0,80 rose orangé	0,80 mauve	0,80 (mauve)
(5)	0,75 rose orangé	0,60 mauve	0,60 (mauve)
(6)	0,25 rose orangé	0,32 mauve	0,32 (mauve)

3) Spectrophotométrie U. V. et I. R.

En U. V. le spectre de l'hétéroside est superposable à celui de l'hespéridoside témoin, soit un maximum à 284 nm et un 2° pic plus faible à 330-335 nm (fig. 1). Il en est de même du spectre I. R. effectué en pastille de K Br et présentant des bandes à 2,9-3,4-6,2-7,9-8,5-9,5 et 12,4 (fig. 2).

Enfin, il n'y a pas de modification du pF par mélange de la substance avec de l'hespéridoside ; il s'agit donc du 7-rhamnoglucoside de l'hespérotol.

4) Conclusion. — Au cours d'essais préliminaires sur des écorces de *Fagara Laurentii* ont été caractérisés (réactions colorées et de précipita-

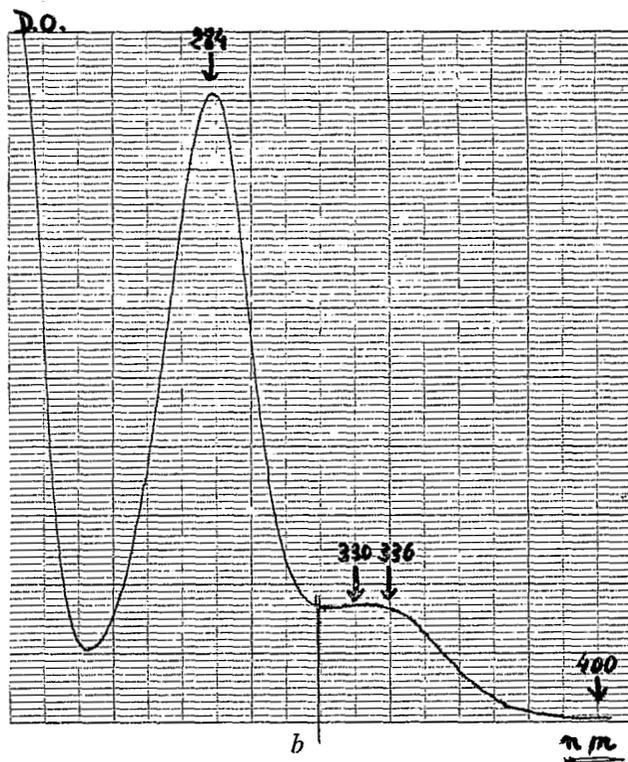
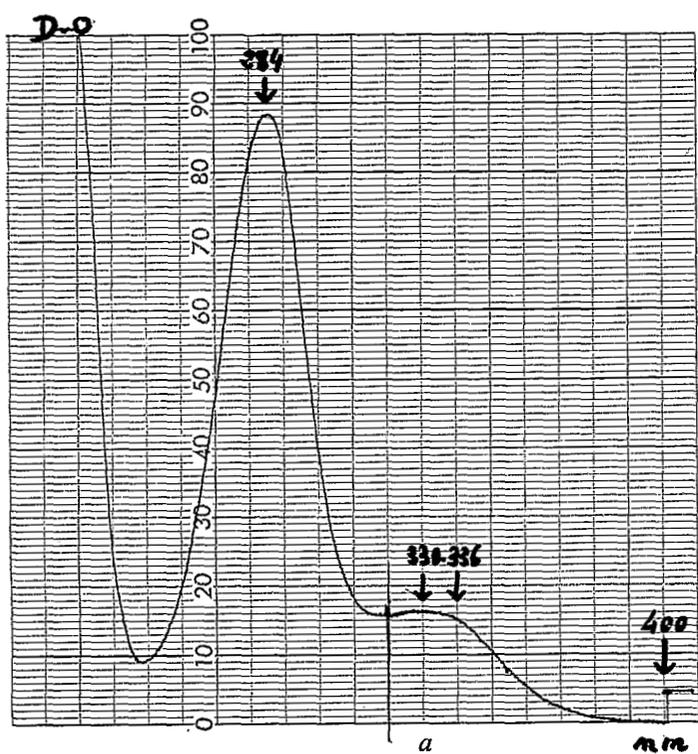


FIG. 1. — Spectres ultraviolets du flavonoside du *Fagara Laurentii* De Wild (a) et de l'hesperidoside (b).

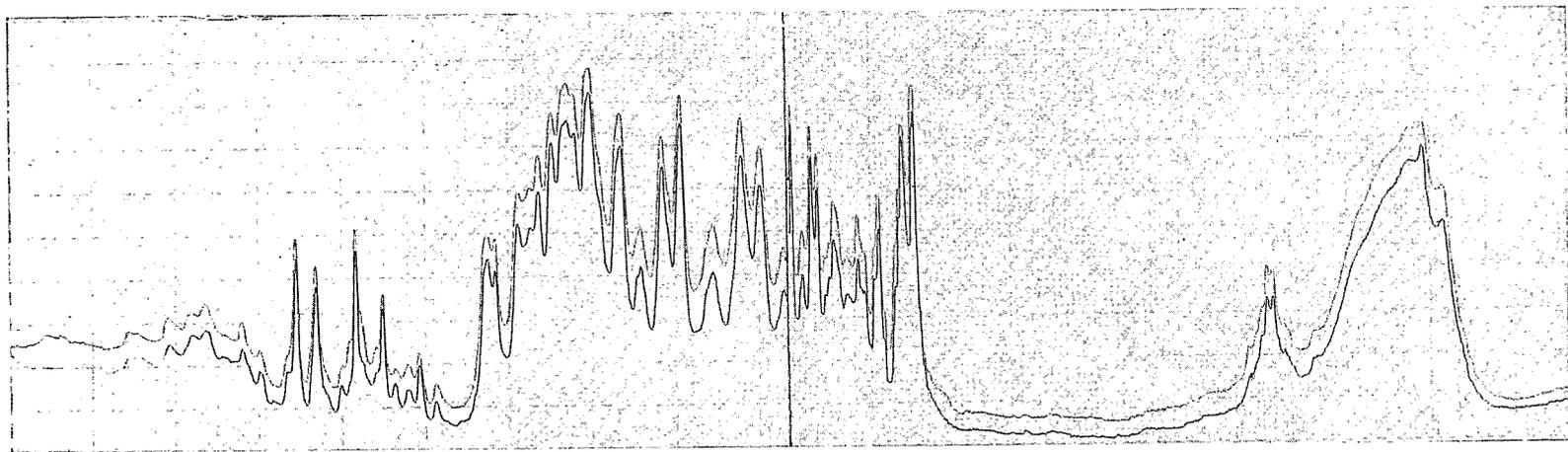


FIG. 2. — Spectres infrarouges de l'hespéridoside (courbe supérieure) et du flavonoside du *Fagara Laurentii* De Wild (courbe inférieure).

tion, chromatographie sur papier) des alcaloïdes, des tanins, des coumarines, une huile essentielle, des flavonoïdes.

De la fraction flavonoïdique a été séparé un hétéroside, présentant les réactions colorées et le spectre ultraviolet des flavanones. Par hydrolyse acide, cette substance fournit d'une part, du glucose et du rhamnose et d'autre part, une génine ayant les constantes de l'hespérotol (trihydroxy 5-7-3' méthoxy 4' flavanone) déjà signalé chez les Rutacées, notamment chez divers *Citrus* et *Xanthoxylum* (2), mais non encore séparé à notre connaissance du genre *Fagara*.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ALBACH (R. F.) et REDMAN (G. H.). — *Phytochem.*, 1969, 8, 127.
- [2] ARTHUR (H. R.), HUI (W. H.) et MA (C. N.). — *J. chem. Soc.*, 1956, 632.
- [3] BOWDEN (K.) et ROSS (W. J.). — *J. chem. Soc.*, 1963, 3503-3505.
- [4] PALMER (K. H.). — Recherches sur quelques Rutacées africaines à alcaloïdes du genre *Fagara*, *Thèse Doct. Pharm. Univ.*, Paris, 1956.
- [5] PALMER (K. H.) et PARIS (R.). — *Ann. pharm. fr.*, 1955, 13, 657.
- [6] PARIS (R.) et MOYSE-MIGNON (H.). — *Ann. pharm. fr.*, 1947, 5, 40.
- [7] PARIS (R.) et MOYSE-MIGNON (H.). — *Ann. pharm. fr.*, 1948, 6, 409.
- [8] PARIS (R.) et MOYSE-MIGNON (H.). — *Ann. pharm. fr.*, 1951, 9, 479.
- [9] WILDEMAN (E. DE). — Mission Emile LAURENT (1903-1904), 1, Bruxelles, imp. F.-Vanbuggenlondt, 1905-1907.