

## 268. Isolement et identification de deux $\beta$ -carbolines dans la racine de chicorée torréfiée

par Arlette Proliac

Laboratoire de botanique et de biologie cellulaire, UER des sciences pharmaceutiques, Université Claude Bernard, 8, Av. Rockefeller, 69373 Lyon (France)

et Maurice Blanc<sup>1)</sup>

Société d'Assistance Technique pour Produits Nestlé S.A., Laboratoire Industriel, 1350 Orbe (Suisse)

(13. IX. 76)

**Isolation and identification of two  $\beta$ -carbolins in roasted chicory root.** – *Summary.* Two  $\beta$ -carbolines, harman and norharman, have been isolated from roasted chicory roots by solvent extraction and chromatography on alumina. They have been identified by chromatographic and spectroscopic techniques in comparison with reference compounds.

**1. Introduction.** – Bien qu'utilisée depuis des siècles en médecine populaire, la racine de chicorée n'a pas encore livré complètement la composition chimique de toutes ses composantes. Ceci est encore plus vrai pour la forme sous laquelle elle est consommée aujourd'hui, à savoir après torréfaction. Les principaux travaux scientifiques dans ce domaine ont été faits sur les constituants pondéralement les plus abondants, l'inuline [1], les constituants amers [2] et les acides phénoliques [3].

Nous nous sommes surtout attachés à la recherche de constituants quantitativement mineurs, en entreprenant de façon plus systématique la mise en évidence des classes chimiques possibles. C'est ainsi que les tests préliminaires de présence positifs, nous avons entrepris l'étude de ces constituants et détecté deux  $\beta$ -carbolines: l'harmane et le norharmane.

**2. Résultats.** – 2.1. *Tests préliminaires de présence d'alcoïdes.* Les réponses positives aux tests de Mayer, Wagner et Marmé permettent de soupçonner fortement la présence d'alcoïdes dans la racine de chicorée torréfiée.

2.2. *Isolement des composés.* Les deux substances alcoïdiques présentes ont été isolées selon le mode d'extraction et de fractionnement indiqué dans la partie expérimentale.

2.3. *Identification des substances.* L'identité des deux alcoïdes isolés avec, respectivement, l'harmane et le norharmane, a été établie par comparaison directe avec des échantillons de substances de référence.

Les Rf en chromatographie en couche mince ainsi que les réponses aux principaux révélateurs des alcoïdes sont analogues à ceux des témoins.

Les spectres UV./VIS. dans le méthanol nous orientent déjà vers la nature indolique des composés isolés.

Les spectres IR. sont rigoureusement superposables à ceux des produits de référence et les principales bandes sont celles indiquées par la littérature [4] (Fig. 1 et 2). Les spectres de masse sont semblables à ceux des produits témoins et correspondent à l'interprétation de différents auteurs [5]. Pour le composé I, la fragmentation est conforme à celle de l'harmane témoin, avec un pic moléculaire à  $m/e$  182 et deux

<sup>1)</sup> Auteur à qui toute correspondance doit être adressée.

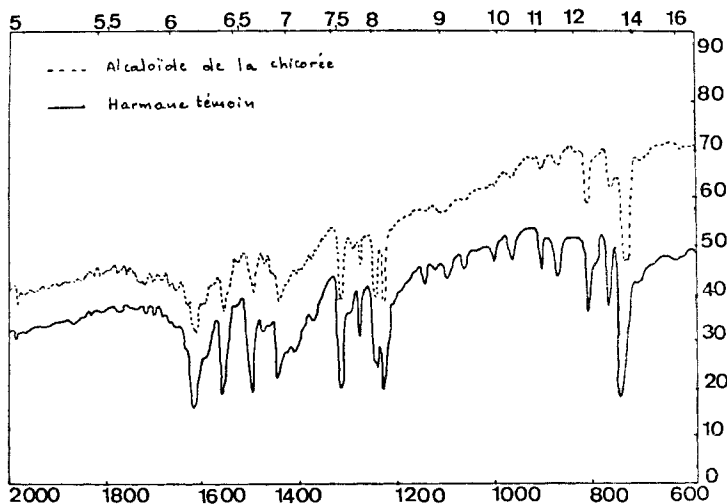


Fig. 1.  
Spectre IR. de  
l'harmaline

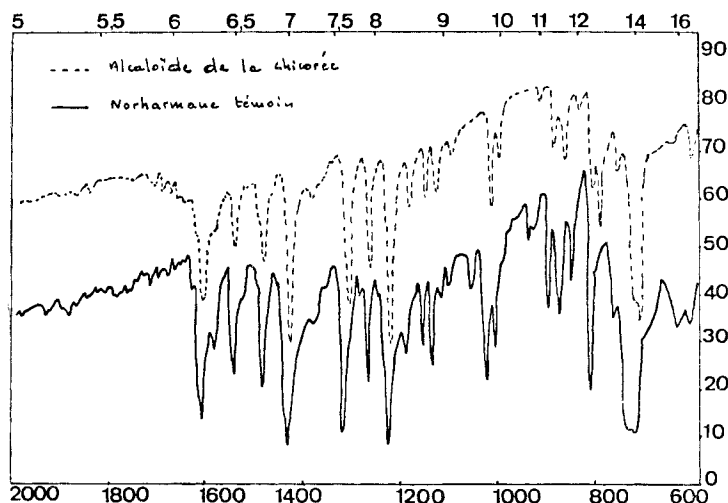


Fig. 2.  
Spectre IR. du  
norharmane

pics abondants à  $m/e$  154 et 127 dus à la perte successive de deux molécules de HCN. Ce schéma est à peu près le même pour le composé II, avec un pic moléculaire à  $m/e$  168 et deux pics principaux à  $m/e$  140 et 114. Un «peak matching» de ce dernier composé nous a permis d'en établir directement la formule, en plein accord avec celle du norharmane.

Le spectre RMN. du composé I présente un singulet à 2,82 ppm et celui du composé II un singulet à 2,15 ppm, suggérant un atome d'hydrogène rattaché à un atome d'azote hétérocyclique. Pour les deux produits I et II un multiplet à  $\sim 7,5$  ppm, caractéristique d'un noyau aromatique, est observé.

**3. Discussion.** – Sur la base des rendements d'extraction, nous pouvons estimer dans les racines de chicorée normalement torréfiées, une quantité d'une dizaine de ppm de ces alcaloïdes, ce qui est très faible.

Les racines de chicorée fraîches sont actuellement à l'étude; le procédé d'extraction habituel ne nous a pas révélé, pour l'instant, l'existence de tels alcaloïdes.

Cela pose la question d'une formation éventuelle de ces constituants au cours d'un traitement thermique, à partir, par exemple, du tryptophane et d'un sucre selon un schéma de réaction déjà décrit dans la littérature [6].

**Partie expérimentale.** – 1. *Isolement et purification des composés.* Après délipidation à froid par le chloroforme, la chicorée torréfiée moulue est triturée avec l'ammoniaque à 50%, puis extraite à froid par percolation avec le chloroforme. Cette extraction dure environ 10 jours, jusqu'à ce que le marc présente un test de *Mayer* négatif. L'extrait chloroformique concentré sous pression réduite est traité plusieurs fois par l'acide chlorhydrique à 10%. Les solutions chlorhydriques réunies sont alcalinisées par l'ammoniaque et épuisées à plusieurs reprises par le chloroforme. La phase chloroformique, séchée sur sulfate de sodium, est évaporée et constitue l'extrait alcaloïdique total.

Une première purification est réalisée sur colonne de gel de Sephadex LH 20 avec, pour éluant, un mélange méthanol/chloroforme 7:3 (*v/v*) [7]. L'élution est suivie par chromatographie en couche mince. La fraction contenant les alcaloïdes, chromatographiée en phase gazeuse, donne deux pics dont les temps de rétention sont identiques à ceux obtenus en chromatographiant dans les mêmes conditions opératoires un mélange des deux témoins, harmane et norharmane. Ces deux composés sont alors séparés sur colonne d'alumine d'activité II-III avec pour éluant le benzène. Les éluants sont contrôlés par chromatographie en couche mince de silice.

2. *Chromatographie en couche mince.* Les séparations sont pratiquées sur gel de silice, plaques *Merck* prêtes à l'emploi, avec comme solvant le mélange chloroforme/méthanol/ammoniaque 98:1,5:0,5 (*v/v*). Les alcaloïdes sont mis en évidence d'une part par fluorescence en lumière UV. à 254 nm et, d'autre part, par pulvérisation soit du réactif de *Dragendorff*, soit du réactif à l'iodoplatinate de potassium.

A l'échelle préparative, les séparations sont réalisées sur couches épaisses préparées avec un gel de silice *Merck*, dans le mélange chloroforme/méthanol 85:15 (*v/v*).

3. *Techniques spectroscopiques.* Les spectres UV./VIS. sont enregistrés en solution dans le méthanol sur appareils *Beckman* DB ou *Unicam* SP 1800.

Les spectres IR. sont enregistrés, après pastillage dans le KBr, sur appareil *Beckman*.

Les spectres de masse sont effectués sur appareil *AEI* MS 902 et les spectres RMN. sur appareil *Varian* A 60.

4. *Données analytiques. Composés I:* UV. (méthanol): 349, 336, 288, (283), 252, 236. – SM. (*m/e*): 182, 181, 154, 140, 127, 91, 77, 63. – Spectres IR. et RMN. identiques à ceux d'un échantillon authentique d'harmane.

*Composé II:* UV. (méthanol): 351, 335, 289, (283), 251, 235. – SM. (*m/e*): 168, 141, 140, 114. «Peak matching» 168,0684 (Calc. pour  $C_{11}H_8N_2$ : 168,0687). Spectres IR. et RMN. identiques à ceux d'un échantillon authentique de norharmane.

#### BIBLIOGRAPHIE

- [1] G. O. *Aspinall* & E. L. *Hirst*, in *Methods in carbohydrates chemistry*, AP éd. (1965); W. J. *Whelan*, in *Modern methods of plant analysis*, Springer éd., 3 (1955).
- [2] L. *Dolejs*, M. *Soucek*, M. *Horak*, V. *Herout* & F. *Sorm*, *Chem. listy*, 52, 2094 (1958); G. *Schenk*, H. *Hoth* & W. *Reubert*, *Arch. Pharmaz.* 294, 17 (1961); G. *Schenk*, *C. N. S. Drugs*, Symp. 112 (1966); D. H. R. *Barton* & C. R. *Narayanan*, *J. chem. Soc.* 1958, 963.
- [3] M. L. *Scarpati* & G. *Oriente*, *Tetrahedron* 4, 43 (1958).
- [4] E. C. G. *Clarke*, in *Isolation and identification of drugs*. The Pharmaceutical press. Londres 488 (1971).
- [5] R. T. *Coutts*, R. A. *Locock* & G. W. A. *Slywka*, *Org. Mass Spectr.* 3, 879 (1970); E. V. *Brown* & I. *Ahmad*, *Phytochemistry* 1973, 3485; L. *Angenot*, N. G. *Bisset* & A. *Denoël*, *Plantes médicinales et phytothérapie* VII, 33 (1973).
- [6] K. H. *Bräutigam* & T. *Severin*, *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* 154, 80 (1974).
- [7] A. *Hérisset*, A. *Cavé* & R. R. *Paris*, *Plantes médicinales et phytothérapie* IV, 152 (1972).