

238. Isolement et identification de la C-galactosyl-8 apigénine dans les tiges feuillées de *Carlina acanthifolia*

par Arlette Proliac et Jean Raynaud*

Laboratoire de Botanique et de Biologie cellulaire, Faculté de Pharmacie de Lyon,
Université Claude Bernard, 8, avenue Rockefeller, F-69373 Lyon

(27.VI.83)

Isolation and Identification of 8-C-Galactosylapigenin from Leaves of *Carlina acanthifolia*

Summary

8-C-galactosylapigenin was isolated from the leaves of *Carlina acanthifolia* (*Compositae*). This identification represents only the third report of a mono C-galactosylapigenin in plants and the first report in the *Compositae*.

Carlina acanthifolia est une Composée rencontrée sur les terrains arides et les pâturages de montagne des Alpes méridionales [1]. Elle est utilisée en médecine populaire comme tonique, stomachique et sudorifique. La plante en décoction dans du vin serait efficace dans le traitement des dartres et de certaines dermatoses [2].

L'un d'entre nous [3] a mentionné la richesse particulière de cette plante en C-glycosyl flavonoïdes tant sur le plan quantitatif que qualitatif; deux mono-C glycosyls de la lutéoline (orientine et homoorientine) et deux di-C-glycosyls de l'apigénine (schaftoside et isoschaftoside) avaient été isolés et identifiés. Un composé présent en plus faible quantité n'avait pu être identifié.

Résultats. – Pour isoler l'hétéroside l'extraction a été réalisée sur cinq kilogrammes de tiges feuillées. L'isolement et la purification ont été effectués selon le mode d'extraction et de fractionnement indiqué dans la partie expérimentale.

L'hétéroside résiste à une hydrolyse acide prolongée ce qui oriente vers une structure de type C-glycosyl. Les spectres UV visible dans le méthanol et en présence de divers réactifs [4] orientent vers un dérivé de l'apigénine possédant des hydroxyles libres en 5, 7 et 4'. L'identification du produit avec la C-galactosyl-8-apigénine a été établie par comparaison avec un échantillon de substance de référence. Les R_f en chromatographie sur papier et sur couche mince sont analogues à ceux du témoin.

Le spectre de masse du dérivé perméthylé est semblable à celui du produit témoin perméthylé avec une fragmentation de type C-glucosyl-8-apigénine: pic moléculaire très important M^+ 530 et fragment 100% à $M^+ - 175$ [5]. Cependant il n'est pas possible de lever l'intermination entre le glucose et le galactose les spectres de masse de leurs dérivés perméthylés étant semblables. Par contre les R_f des galactosyl-8- et gluco-

syl-8-apigénines perméthylées sont nettement différents et permettent de retenir la structure de la 8-C- β -D-galactopyranosylapigénine.

La présence de galactose dans une C-glycosyl flavone revêt un intérêt particulier du fait de sa rareté. La C-galactosyl-8-apigénine n'a été mentionné que deux fois à l'état naturel chez une Graminée, *Briza media*, [6] et chez une Liliacée *Polygonatum multiflorum* [7]. Il s'agit par ailleurs de la première mention de cette C-galactosyl-8-apigénine dans la famille des Composées.

Partie expérimentale

Isolement et purification du composé. Cinq kilogrammes de feuilles de *Carlina acanthifolia*, récoltées dans la Drôme au col de Grimone sont épuisés au Soxhlet par le méthanol. Les extraits méthanoliques sont traités par le mélange CH₃OH/H₂O/CHCl₃ (1:1:1 v/v) afin d'éliminer les chlorophylles. La phase hydroalcoolique est évaporée, reprise par l'eau puis épuisée par l'acétate d'éthyle. L'extrait est évaporé, repris par une faible quantité de MeOH. Par addition de CHCl₃ un précipité apparaît, qui est isolé et chromatographié sur une colonne de polyamide n°CC_{6.6} montée dans l'eau avec pour éluant l'eau puis les mélanges H₂O/MeOH (à 10%).

Les éluants sont contrôlés en chromatographie sur papier *Whatman n° 1* dans les systèmes CH₃COOH/H₂O (15:85 v/v). Trois composés sont séparés: I $R_f = 0,37$, II $R_f = 0,27$ et III $R_f = 0,20$. Les composés I et II correspondent respectivement à l'homorientine et à l'orientine déjà identifiées. Le composé III est nouveau, nous en avons recueilli 10 mg.

Chromatographies. Les propriétés chromatographiques ont été établies en présence d'un témoin authentique de galactosyl-8-apigénine sur papier *Whatman n° 1* dans les systèmes 4:1:5 (BAW) (Système I); *t*-BuOH/AcOH/H₂O (3:1:1) (Système II); AcOH/H₂O (15:85 v/v) (Système III); AcOH/H₂O (30:70) (Système IV).

Sur CCM de polyamide *Schleicher et Schüll*: H₂O/EtOH/butanone-2/acétylacétone (13:3:3:1 v/v) (Solvant V).

Pour le dérivé perméthylé: sur CCM gel de silice (D.C Fertigplatten Kieselgel): CHCl₃acétone (8:2 v/v) (Système VI).

Techniques spectroscopiques. Les spectres UV visibles sont enregistrés en solution dans le MeOH et en présence de divers réactifs [6] sur appareil *Beckman Model 25*.

Le spectre de masse a été effectué après perméthylation selon la technique décrite par *Bouillant* [5] sur l'appareil AEI MS 902 (70 eV).

Données analytiques. Composé naturel: co-chromatographie dans 5 systèmes différents avec un témoin de C-galactosyl-8-apigénine. CDP: $R_f = 0,41$ (système I); 0,51 (système II); 0,30 (système III); 0,42 (système IV). CCM: $R_f = 0,14$ (système IV). UV: (λ_{max} en nm): (MeOH) 272, 331; (NaOAc) 284, 380; (NaOAc + H₃BO₃) 272, 335; (AlCl₃) 279, 305, 349, 384; (AlCl₃ + HCl) 281, 307, 350, 383; (NaOMe) 284, 330, 398.

Composé perméthylé. CCM: $R_f = 0,15$ (C-galactosyl-8-apigénine = 0,15; C-glucosyl-8-apigénine = 0,12 et 0,21). MS: 530 (77,4, M^+), 369 (6,9, $M^+ - 161$), 356 (21,7, $M^+ - 174$), 355 (100, $M^+ - 175$), 341 (27,3, $M^+ - 189$), 325 (15,5, $M - 205$).

Nous remercions Monsieur le Prof. *Chopin* de l'Université Claude Bernard de Lyon pour la fourniture du témoin 8-C-galactosyl-apigénine.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] G. *Bonnier*, Flore complète illustrée en couleurs de France, Suisse et Belgique – Orlhac ed. Paris.
- [2] P. *Lieutachi*, Livre des Bonnes herbes – Robert Morel ed. 1966.
- [3] L. *Razolojaona* & J. *Raynaud*, *Plantes Med. Phytother.* 12, 281 (1978).
- [4] T.J. *Mabry*, K.R. *Markham* & M.B. *Thomas*, The Systematic identification of flavonoids. Berlin, Heidelberg, New-York 1970.
- [5] M.L. *Bouillant*, Thèse Doct. ès Sci. Lyon 1976.
- [6] R.M. *Castledine* & J.B. *Harborne*, *Phytochemistry* 15, 803 (1976).
- [7] J. *Chopin*, G. *Dellamonica*, E. *Besson*, L. *Skrzypczakowa*, J. *Budzianowski* & T.J. *Mabry*, *Phytochemistry* 16, 1999 (1977).