

CHROM. 15.903

## Note

### Analyse des alcaloïdes du *Papaver pilosum* par chromatographie liquide haute performance: application à la séparation d'épimères

M. HUTIN\*, A. ÖZTEKIN\*, A. CAVÉ et J. P. FOUCHER

Laboratoire de Pharmacognosie, ERA 317 CNRS, Faculté de Pharmacie, 92290 Châtenay-Malabry (France) et Laboratoire de Pharmacognosie, Faculté de Pharmacie, 14032 Caen (France)

(Reçu le 6 avril 1983)

Dans le cadre d'une étude chimiotaxonomique des espèces de *Papaver* de Turquie appartenant à la section *Pilosa*<sup>1,2</sup> l'utilisation de la chromatographie liquide haute performance (CLHP), a été envisagée, de manière à pouvoir effectuer une analyse systématique et rapide, en partant d'échantillons de faible importance.

Les alcaloïdes rencontrés dans la section *Pilosa* appartiennent le plus souvent aux groupes des aporphines et morphinanes<sup>1-4</sup>. Disposant de nombreux alcaloïdes appartenant à ces séries et ayant isolé par chromatographie sur colonne les principaux alcaloïdes du *Papaver pilosum*, ceux-ci nous ont servi à mettre au point des méthodes de CLHP analytique ou préparative destinées à des études ultérieures systématiques.

Cette note présente les méthodes de CLHP en phase normale (Ph.n.) et en phase inverse (Ph.i.) retenues. L'une d'elles est utilisable à des fins préparatives et a permis en particulier de séparer des alcaloïdes épimères et de les isoler en quantité suffisante pour une étude structurale.

#### PARTIE EXPÉRIMENTALE

##### Matériel

Pompe 6000 A, injecteur U 6 K, détecteur UV M 440, colonnes de 30 cm × 3.9 mm I.D. garnies de  $\mu$ Porasil (Ph.n.) ou de  $\mu$ Bondapak C<sub>18</sub> (Ph.i.) (tout de Waters Assoc.), précolonne remplie de silice H (Merck) (Ph.n.) ou de Lichroprep RP-18 (Merck) (Ph.i.); filtration des échantillons sur AP 40 et FLHP 0/300 (Millipore), (Ph.n.) ou sur AP 25 et HATF 01300 (Millipore) (Ph.i.).

##### Conditions opératoires de Chromatographie

Détection à 280 nm. Chromatographie en phase normale: phase mobile A, hexane-dichlorométhane-éthanol absolu-triéthylamine (300:60:20:20); phase mobile B, hexane-dichlorométhane-éthanol absolu-triéthylamine (300:60:40:20). Chromatographie en phase inverse: phase mobile C, acétonitrile-eau-triéthylamine (40:60:0.1).

\* Adresse permanente: Laboratoire de Pharmacognosie, Faculté de Pharmacie, Université d'Istanbul, Turquie.

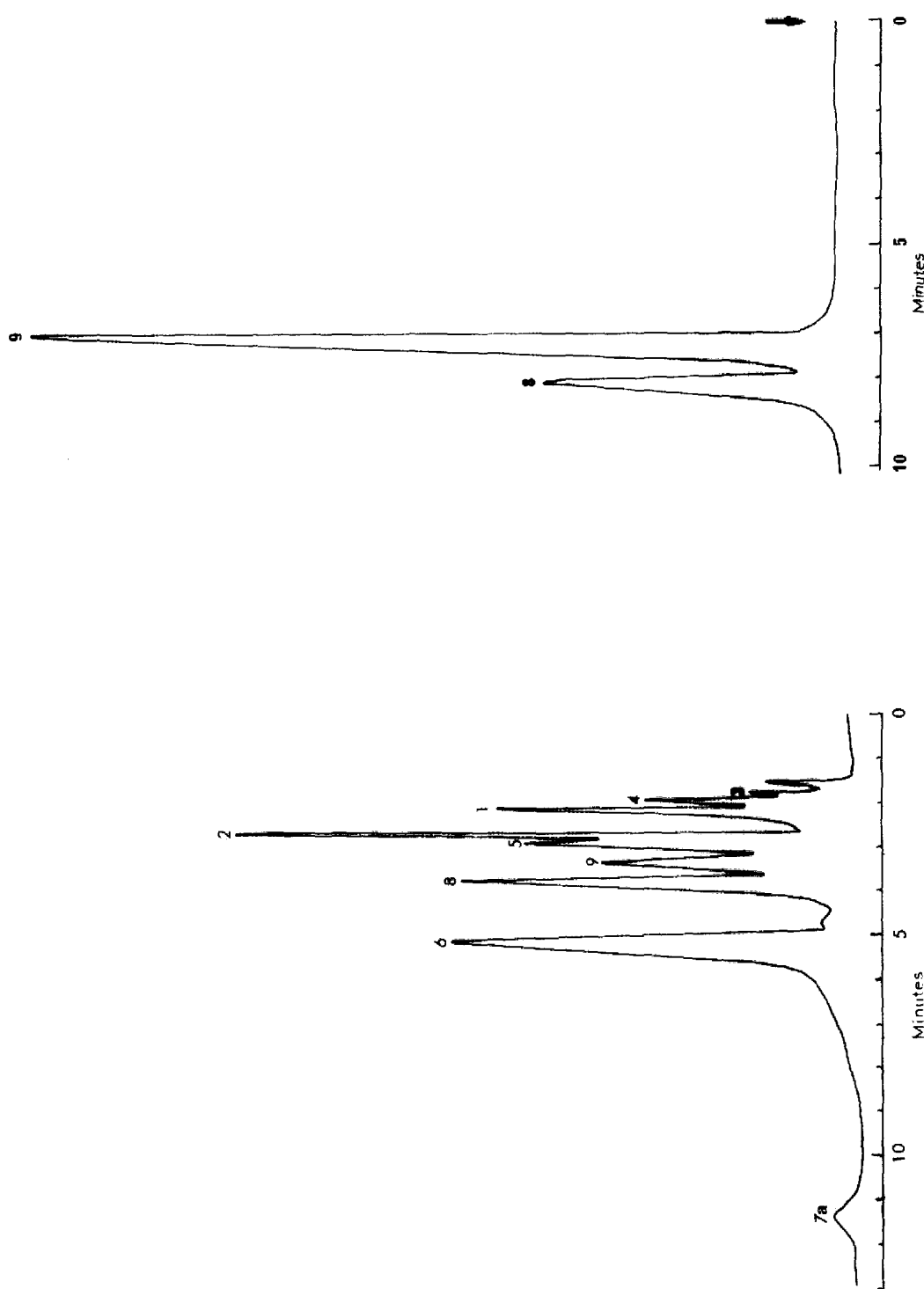


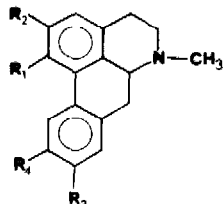
Fig. 1. Chromatogramme des alcaloïdes totaux en phase normale (phase mobile A, 2 ml/min). 1 = Roémérine, 2 = glaucine, 3 = déhydroroémérine, 4 = déhydroglaucine, 5 = mécambrine, 6 = amurine, 7a = dihydronaudarine, 8 = amurine, 9 = épiaurinine.

### Préparation des solutés

Les alcaloïdes témoins, sous forme de base ainsi que les alcaloïdes totaux obtenus par extraction classique<sup>1</sup> sont mis en solution dans la phase mobile et filtrés avant leur injection.

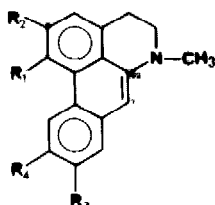
### RÉSULTATS ET DISCUSSION

Parmi les alcaloïdes témoins qui ont été utilisés, certains ont été isolés de *Papaver pilosum*, aporphinoïdes: roémérine (1) glaucine (2) déhydroroémérine (3) déhydroglaucine (4) et mécambrine (5); morphinanes: amurine (6) et dihydronudaurine (7a). L'amurinine (8) et l'épiamurinine (9) mises en évidence par CLHP en phase normale ont été isolées par CLHP en phase inverse et leur structure déterminée par analyse spectrale. Pour la chromatographie sur  $\mu$ Porasil 10  $\mu$ m la phase mobile utilisée est du même type que celle qui a été employée pour la séparation des alcaloïdes du *Papaver somniferum*<sup>5</sup>. Elle possède une force éluante moindre liée à une proportion plus faible d'éthanol absolu. Dans ces conditions, la résolution n'est pas parfaite (Fig. 1), notamment pour la déhydroglaucine et la mécambrine, mais celle-ci permet toutefois d'obtenir une "image chromatographique" aisément interprétable et suffisante pour l'analyse en routine d'extraits de *Papaver*. Par contre pour réaliser l'isolement par CLHP de certains des constituants du mélange alcaloïdique, il a été nécessaire de recourir à la chromatographie en phase inverse sur  $\mu$ Bondapak C<sub>18</sub>. Les proportions d'acétonitrile et d'eau dans la phase mobile ont été testées en vue d'améliorer la résolution, celle-ci étant satisfaisante avec une augmentation du pourcen-



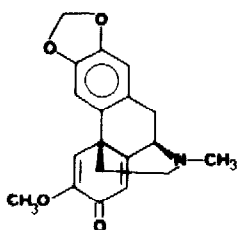
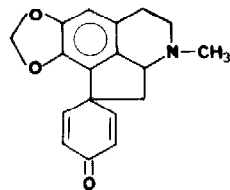
**1:** R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> = OCH<sub>2</sub>O; R<sub>3</sub> = R<sub>4</sub> = H

**2:** R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = R<sub>4</sub> = OCH<sub>3</sub>



**3:** R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> = OCH<sub>2</sub>O; R<sub>3</sub> = R<sub>4</sub> = H

**4:** R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = R<sub>4</sub> = OCH<sub>3</sub>



**7a:** R<sub>1</sub> = R<sub>3</sub> = H; R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub>; R<sub>4</sub> = OH

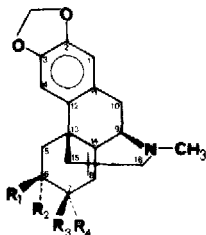
**7b:** R<sub>1</sub> = R<sub>4</sub> = H; R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub>; R<sub>3</sub> = OH

**7c:** R<sub>1</sub> = OCH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = H; R<sub>4</sub> = OH

**7d:** R<sub>1</sub> = OCH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> = R<sub>4</sub> = H; R<sub>3</sub> = OH

**8:** R<sub>1</sub> = H; R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub>; R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> = O

**9:** R<sub>1</sub> = OCH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> = H; R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> = O



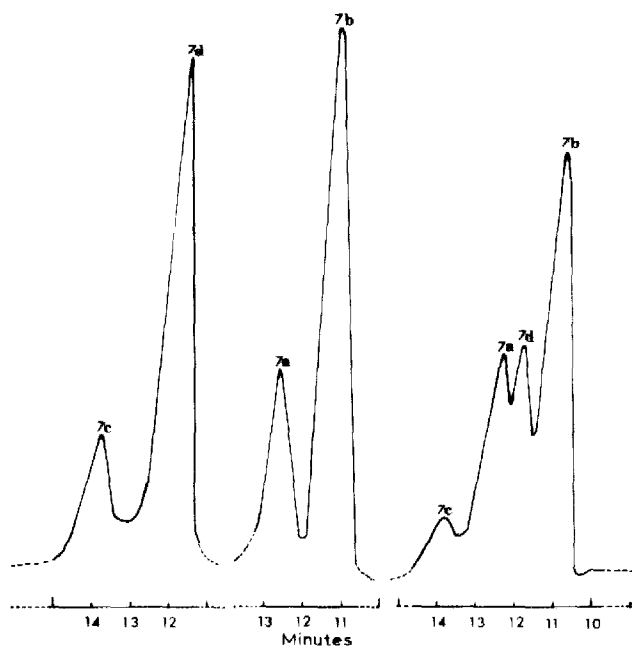


Fig. 3. Chromatogrammes des épimères (7a, 7b, 7c et 7d) de la dihydronudaurine en phase normale (phase mobile B, 1 ml/min).

tage d'eau (Fig. 2). Par cette méthode l'amurinine (8) et son isomère en 6, l'épiamurinine (9) sont bien séparées, ce qui a permis l'isolement de quantité suffisante de ces alcaloïdes pour études physicochimiques. Le couple des épimères 8 et 9, peut également être analysé par CLHP en phase normale, les temps de rétention étant nettement distincts (Fig. 1). La technique a ensuite été utilisée pour l'analyse d'autres couples d'épimères, particulièrement les dérivés de réduction du carbonyle en 7, de l'amurinine (8) et de l'épiamurinine (9), méthode mise à profit lors de l'établissement de la structure de la dihydronudaurine (7a) de ses isomères 7b, 7c, 7d, (Fig. 3).

#### CONCLUSION

Ces méthodes peuvent être utilisées avec profit aussi bien pour l'analyse d'extraits d'alcaloïdes totaux de *Papaver*, pour l'isolement des alcaloïdes ou pour suivre les réactions chimiques effectuées sur ces alcaloïdes en vue de la détermination de leur structure. Elles doivent donc rendre les services escomptés pour l'étude chimio-taxonomique entreprise sur les *Papaver* turcs.

#### BIBLIOGRAPHIE

- 1 G. Sariyar et A. Öztekin, *Pl. Med. Phytoth.*, 15 (1981) 160-166.
- 2 R. Hocquemiller, A. Öztekin, F. Roblot, M. Hutin et A. Cavé, à paraître.
- 3 S. Pfeifer et D. Thomas, *Pharmazie*, 27 (1972) 48-57.
- 4 S. Pfeifer et I. Mann, *Pharmazie*, 20 (1965) 643-649.
- 5 M. Hutin, A. Cavé et J. P. Foucher, *J. Chromatogr.*, à paraître.