

## SHORT COMMUNICATION

# LES GLYCOSIDES FLAVONIQUES FOLIAIRES DE QUELQUES ARBRES, AU COURS DU CYCLE VÉGÉTATIF

M. TISSUT

Laboratoire de Physiologie Végétale de l'Université de Grenoble, France

et

K. EGGER

Botanisches Institut der Universität, Heidelberg, Allemagne

(Reçu le 4 juin 1971)

**Résumé**—Les glycosides flavoniques foliaires de *Betula pubescens*, *Corylus avellana*, *Quercus pedunculata*, *Aesculus hippocastanum*, *Tilia argentea* et *Fraxinus excelsior* ont été analysés à différentes étapes du cycle végétatif. Des changements apparaissent entre glycosides des feuilles jeunes et adultes chez *Quercus*, *Corylus* et *Tilia*.

**Abstract**—We have studied the flavonol glycosides of the leaves of *Betula pubescens*, *Corylus avellana*, *Quercus pedunculata*, *Aesculus hippocastanum*, *Tilia argentea* and *Fraxinus excelsior*, at different stages in the life cycle. Some differences appear in the glycosides from young and mature leaves of *Quercus*, *Corylus* and *Tilia*.

## INTRODUCTION

LA GLYCOSYLATION des flavonoïdes est généralement considérée comme stable et caractéristique d'une espèce. Elle peut même être utilisée comme critère taxonomique important, par exemple dans le cas des vins où la présence de diglucosides d'anthocyanes caractérise des raisins provenant de l'hybridation de *Vitis vinifera* avec d'autres espèces.<sup>1</sup>

Nous avons cependant constaté dans un travail antérieur, que des changements de glycosylation des flavonols de la feuille de *Fagus sylvatica* avaient lieu au cours du cycle végétatif.<sup>2</sup> Ce phénomène se produit-il également chez d'autres végétaux? Quelle est son importance physiologique?

## RESULTATS

Nous avons retenu, pour notre étude, six espèces d'arbres dont les feuilles contiennent des flavonols et qui appartiennent à des familles botaniques très diverses:

Bétulacées. *Betula pubescens* Ehrh. (Bouleau pubescent) et *Corylus avellana* L. (Noisetier).

Fagacées. *Quercus pedunculata* Ehrh. (Chêne pédonculé).

Hippocastanacées. *Aesculus hippocastanum* L. (Marronnier).

Tiliacées. *Tilia argentea* Desf. (Tilleul argenté).

Oléacées. *Fraxinus excelsior* L. (Frêne).

1. *Analyse des glycosides des feuilles adultes.* Nous avons procédé tout d'abord à l'analyse des hydrolysats provenant des extraits acétoniques de flavonols (Tableau 1).

<sup>1</sup> P. RIBEREAU-GAYON, *Les Composés Phénoliques des Végétaux*, pp. 230-231, Dunod, Paris (1968).

<sup>2</sup> M. TISSUT, *Phytochem.* **6**, 1291 (1967).

TABLEAU 1. AGLYCONES ET PARTIES GLUCIDIQUES CONSTITUANT LES FLAVONOLS DES FEUILLES ADULTES

	Aglycones	Partie glucidique
<i>Betula</i>	K, Q, My	Glucose
<i>Corylus</i>	K, Q, My	Rhamnose
<i>Quercus</i>	K, Q, I	Glucose
<i>Aesculus</i>	K, Q	Glucose, Rhamnose, Arabinose
<i>Tilia</i>	K, Q, My	Glucose, Rhamnose
<i>Fraxinus</i>	K, Q	Glucose, Rhamnose

Abréviations: K—kaempférol; Q—quercétine; My—myricétine; I—isorhamnétine.

Les études chromatographiques et spectrophotométriques des glycosides et, le cas échéant, de leurs produits d'hydrolyse acide partielle ou alcaline nous conduisent aux conclusions résumées dans le Tableau 2.

2. *Analyse des glycosides des feuilles jeunes.* Chez le Marronnier, le Bouleau et le Frêne, la composition du mélange flavonique des feuilles jeunes est qualitativement semblable à celle des feuilles adultes. Des variations des quantités relatives des différents glycosides peuvent se produire (ex. Marronnier).

Par contre, chez le Chêne pédonculé, le Noisetier et le Tilleul, comme chez le Hêtre, des changements qualitatifs importants de l'ensemble flavonique se produisent entre la feuille jeune et la feuille agée.

TABLEAU 2. GLYCOSIDES FLAVONIQUES DES FEUILLES ADULTES

	Glycosides identifiés par les auteurs	Glycosides précédemment décrits
<i>Betula</i>	Rh-3 K; Rh-3 Q; Rh-3 My; Gl-3 K; Gl-3 Q; un complexe.	Gal-3 Q <sup>3</sup> ; Digal-3 My <sup>4</sup> .
<i>Corylus</i>	Rh-3 My; Rh-3 Q; Rh-3 K.	Rh-3 My <sup>5</sup> .
<i>Quercus</i>	Gl-3 I; Gl-3 K; Gl-3 Q; Rh-3 K; Rh-3 Q.	
<i>Aesculus</i>	Gl-3 K; Gl-3 Q; Rh-3 K; Rh-3 Q; Ar-3 K; Ar-3 Q.	Rh-3 Q <sup>6</sup> ; Rh-3 K; Ar-3 K <sup>7</sup> .
<i>Tilia</i>	Gl-3 K; Gl-3 Q; Rh-3 K; Rh-3 Q; Gl-3, rh-7 K; Gl-3, rh-7 Q; Dirh-3, 7K; Dirh-3, 7Q; Tiliroside; Gl-3 My; Rh-3 My.	Gl-3 K; Gl-3 Q; Rh-3 K; Rh-3 Q; Gl-3, rh-7 K; Gl-3, rh-7 Q; Rh xy-3 Q; Dirh-3, 7 K; Tiliroside. <sup>8</sup>
<i>Fraxinus</i>	Gl-3 K; Gl-3 Q; Rh gl-3 K; Rh gl-3 Q.	Rh-3 Q <sup>9</sup> .

Abréviations: Exemples: Rh-3 K: Rhamnosyl-3 kaempférol; Gl-3, rh-7 Q: Glucosyl-3, rhamnosyl-7 quercétine. Ar: Arabinosyl; Rh: Rhamnosyl; Dirh: Dirhamnosyl; Rh xy: Rhamnoxylosyl; Gl: Glucosyl; Gal: Galactosyl. I: Isorhamnétine; K: Kaempférol; My: Myricétine; Q: Quercétine; Tiliroside: p-coumaroylglycosyl-3 Kaempférol; complexe: flavonol qui n'est pas constitué exclusivement d'un aglycone flavonique et d'une partie glucidique (ex.: tiliroside).

Chez le Chêne, les extraits printaniers sont caractérisés par la présence d'une série de quatre flavonols complexes qui libèrent du glucosyl-3 kaempférol par hydrolyse alcaline; les flavonols de la feuille adulte sont également présents.

Chez le Noisetier, les 3-glucosides et les 3-arabinosides apparaissent sur les chromatogrammes des extraits de feuilles jeunes, les 3-rhamnosides étant alors assez peu abondants. Un flavonol complexe est également présent à ce stade. Les quantités de myricétine, très fortes ensuite, sont alors comparables à celles de quercétine et kaempférol.

Chez le Tilleul argenté, la période printanière est caractérisée par l'absence des 3-glucosides et 3-rhamnosides de kaempférol, quercétine et myricétine. Les deux premiers aglycones sont alors représentés sous forme de 3-glucosides, 7-rhamnosides et de 3,7-dirhamnosides; la myricétine est absente.

La Fig. 1 montre que les différents 'accidents' de la courbe d'accumulation flavonique ont des origines différentes: le premier pic, très aigu, est dû à la forte accumulation de tiliroside dans les poils qui tapissent la face inférieure de la feuille,<sup>10</sup> accumulation qui s'ajoute à celle des 3,7-diglycosides strictement foliaires. La teneur en ces derniers dérivés est alors à peu près stable jusqu'en octobre. Le pic du début de juillet est dû à la formation supplémentaire des 3-monoglycosides.

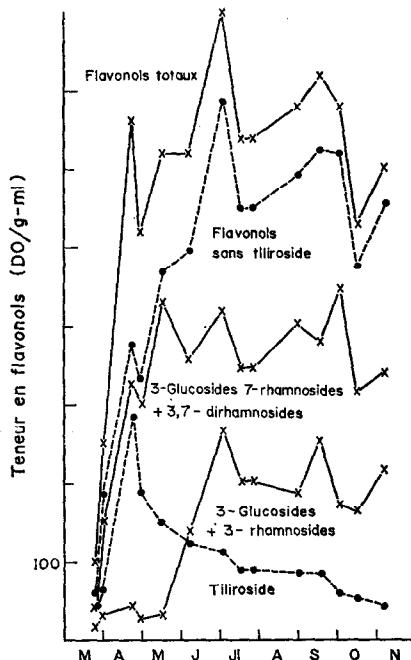


FIG. 1. CYCLE ANNUEL DES DIFFERENTS GLYCOSIDES FLAVONIQUES FOLIAIRES DE *Tilia argentea* DESF.

## DISCUSSION

La période printanière est caractérisée, dans certains cas, par la formation de glycosides particuliers (complexes, chez le Chêne et le Noisetier, 3-glucosides et 3-arabinosides chez le Noisetier) ou par l'absence de formes apparaissant ensuite (Tilleul). Ces changements, ne se produisant pas chez toutes les espèces et n'affectant pas les positions des sucres sur l'aglycone, n'ont vraisemblablement pas une grande importance physiologique. Ils semblent

plutôt témoigner du fait que, à certaines périodes, les flavonols bénéficient de fortes activités de glycosylation peu sélectives, dont le rôle essentiel ne se situe pas au niveau de ces molécules.

Dans tous nos extraits, la glycosylation affecte très semblablement le kaempférol et la quercétine; la myricétine, elle, bénéficie dans plusieurs cas, d'une glycosylation partiellement différente (Tilleul, Bouleau, Noisetier). Le cas du tiliroside est particulier car ce flavonol caractérise les poils du Tilleul.

Notre étude appuie enfin une hypothèse qui s'est imposée au cours de ces dernières années:<sup>11</sup> la formation de flavonols complexes divers paraît être très courante dans le règne végétal.

### TECHNIQUES

*Extraction.* Le mélange pigmentaire est extrait du matériel végétal frais, par l'acétone, à température ordinaire. On effectue ensuite un partage avec l'éther de pétrole (P.E.: 60°) qui enlève l'essentiel des chlorophylles et des caroténoïdes.

*Purification.* La phase inférieure est concentrée, reprise par l'eau et agitée en présence (1) d'éther éthylique qui enlève les 3-arabinosides et les 3-rhamnosides, puis (2) de *n*-BuOH où se rassemblent la plupart des autres glycosides flavoniques. Les sucres libres restent dans la solution aqueuse. Si cela est nécessaire, les mélanges pigmentaires peuvent être chromatographiés sur une petite colonne de polyamide et élusés par une solution hydroalcoolique progressivement enrichie en alcool.

*Analyse des mélanges pigmentaires.* (a) *Hydrolyse acide et identification des produits obtenus.* Les flavonols sont hydrolysés par HCl 2 N, aqueux à 100° pendant 30 mn. Les aglycones, recueillis dans l'éther éthylique sont chromatographiés sur couche mince de polyamide dans le solvant 2 (benzène-MeCOEt-MeOH, 50:25:25), avec des aglycones témoins. Dans le solvant 2, les aglycones ont un *R<sub>f</sub>* d'autant plus fort qu'ils sont moins polaires. Après CCM de quantités plus importantes et élution des bandes, l'étude spectrophotométrique des aglycones est réalisée. La solution aqueuse acide extraite par l'éther est évaporée à sec, reprise par la pyridine et chromatographiée sur papier en vue de l'identification des sucres, dans les solvants suivants: *n*-BuOH-HOAc-H<sub>2</sub>O, 4:1:5, phase organique; et *n*-BuOH-pyridine-H<sub>2</sub>O, 6:4:3, qui sépare glucose et galactose. Les sucres sont révélés par le phthalate d'aniline et chauffage à 105°.

(b) *Chromatographie bidimensionnelle des extraits.* La CCM bidimensionnelle des extraits est réalisée sur polyamide en présence de substances témoins dans les solvants 1 (H<sub>2</sub>O-EtOH-MeCOEt-(MeCO)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, 55:20:20:5) et 2 (mentionné plus haut). Le solvant 1 classe les glycosides flavoniques en fonction de l'importance de leur glycosylation (à partir des *R<sub>f</sub>*, les plus faibles: 3-glucuronides, 3-arabinosides, 7-rhamnoses, 3-rhamnosides, 3-glucosides et 3-galactosides, 7-glucosides, 3-dirhamnosides, 3-rhamnoglucosides, 3-diglucosides, 3-glucosides 7-rhamnosides, 3,7-diglucosides) et le solvant 2 les classe en fonction du nombre d'hydroxyles de l'aglycone.<sup>12</sup> Ce système sépare parfaitement et sans équivoque tous les glycosides flavoniques courants.

*Analyse des pigments isolés.* Une petite quantité de chaque pigment est obtenue par chromatographie en bandes sur couche mince de polyamide (ou sur une petite colonne) en vue (1) de l'étude spectrophotométrique, (2) de l'hydrolyse alcaline par KOH 1% aqueux, 6 h à température ordinaire et identification des produits d'hydrolyse, dans le cas des complexes, et (3) de l'hydrolyse acide partielle par HCl N, 1 mn à 100°, qui libère préférentiellement l'hydroxyle en 3 et fait éventuellement apparaître les 7-glycosides (à partir des 3,7-diglycosides). Ces 7-glycosides sont alors identifiés.

<sup>3</sup> E. SEEGER, Dissertation, Munich (1939), et P. CASPARIS, P. SPRECHER et H. J. MÜLLER, *Pharm. Acta Helv.* **21**, 341 (1946).

<sup>4</sup> L. HÖRHAMMER, H. WAGNER et R. LUCK, *Arch. Pharm.* **290**, 338 (1957).

<sup>5</sup> A. M. COLLOT et C. CHARAUX, *Bull. Soc. Chim. Biol.* **21**, 455 (1939).

<sup>6</sup> H. J. GEHRMANN, L. ENDRES, R. COBET et U. FIEDLER, *Naturwissenschaften* **1**, 14 (1955).

<sup>7</sup> V. N. SPIRIDONOV, A. V. PROKOPENKO et D. G. KOLESNIKOV, *Zh. Obrskh. Khim.* **34**, 4128 (1964).

<sup>8</sup> L. HÖRHAMMER, L. STICH et H. WAGNER, *Arch. Pharm. Berlin* **294**, 685 (1961).

<sup>9</sup> W. GINTL, *Jahresber. Chem.* 800 (1868).

<sup>10</sup> M. TISSUT et K. EGGER, *C.r. Acad. Sci., Paris* **269**, 642 (1969).

<sup>11</sup> J. B. HARBORNE, *Comparative Biochemistry of the Flavonoids*. Academic Press, New York (1967).

<sup>12</sup> K. EGGER et M. KEIL, *Z. Anal. Chem.* **210**, 201 (1965).