

à dire qu'il n'est pas affecté: **3**: 1,43 ppm, **6** 1,45 ppm, **7** 1,47 ppm [6,8]). Le spectre de RMN à 240 MHz montrant l'existence d'un système AB (6,77 et 6,87 ppm. *J* 6,5 Hz) il est clair que le noyau diméthyl-1,3 tétrahydroisoquinoléine ne peut être substitué que de deux façons: jonction C₁-C₇, hydroxy-8 ou jonction C₁-C₆ hydroxy-5. La première de ces deux hypothèses est finalement retenue. En effet, le spectre de RMN du dérivé O,N-diacétyle: **2** montre que le multiplet dû aux protons en C₄ n'est pas affecté alors que le doublet du méthyle en 3 est lui blindé de 0,16 ppm (1,05 ppm au lieu de 1,21 ppm pour **1**). Compte tenu du fait qu'il a été montré—dans le cas de l'ancistrocladine **3** que la N acétylation était sans effet appréciable sur la fréquence de résonnance du méthyle en 1 (3:0,90 ppm, **4** 0,88 ppm, **5** 0,90 ppm) [6] le blindage observé dans le cas de **2** ne peut s'expliquer que si l'on admet que le méthyle en 1 se trouve placé dans le cône d'anisotropie diamagnétique du C=O de l'acétoxy et donc le groupe phénolique de **1** est en 8, ce qui démontre la validité de la structure plane **1** pour la triphyophylline.

Le deuxième alcaloïde appelé triphyopeltine isolé cristallise dans le méthanol: F 241°, $[\alpha]_D = -96^\circ$ (Pyridine = 0,5), C₂₃H₂₅O₄N, M⁺ 379. Le spectre UV [EtOH, λ_{nm} (log_e)]: 232 (4,68), 309 (3,93), 323 (3,89) et 377 (3,82) indique qu'il s'agit d'un composé voisin du précédent. Le spectre de RMN montre l'absence de signal d'un méthyle aromatique mais l'apparition d'un singulet de deux protons de 4,55 ppm attribué à un CH₂ benzylique. On note la présence de 4 protons échangeables, l'un de ceux-ci ayant une position (9,2 ppm) voisine de celles observées pour les méthoxy-8 naphtol-1 [4], position due à la formation d'une liaison hydrogène avec un méthoxyle péri [11]. Ces deux éléments ainsi que l'existence d'un seul méthoxyle (*s*; 3,93 ppm) et l'aspect de la région des protons aromatiques (240 MHz) conduit à une structure **9a** ou **9b** pour la base minoritaire du *Triphyophyllum peltatum*. La faible quantité isolée n'a pas permis de préciser davantage cette hypothèse.

En conclusion, la composition chimique du *Triphyo-*

phyllum peltatum s'avère très intéressante sur le plan de la chimiotaxonomie. En effet, il n'existe à ce jour qu'une seule famille caractérisée par la présence d'alcaloïdes naphtalène diméthyltétrahydroisoquinoléine: celle des Ancistrocladacées [6-9], or cette famille est botaniquement reliée à celle des Dionchophyllacées [12] et au Droséracées. On remarquera également la présence de quinones dans trois de ces familles: plumbagone de *Dionchophyllum tholoni*, de *T. peltatum* et de divers *Droseras*, ancistroquinone de l'*Ancistrocladus heyneanus* [13].

BIBLIOGRAPHIE

1. Airy Shaw, H. K. (1952) *Kew Bull.* IV, 341.
2. Bouquet, A. et Paris, R. R. (1967) *Plantes Méd., Phytother.* I, 214.
3. Allport, D. C. et Bu'lock, J. D. (1960) *J. Chem. Soc.* 654.
4. Siohu, G. S., Sankaram, A. V. B. et Mahmood Ali, S. (1968) *Indian J. Chem.* 6, 681.
5. Budzikiewicz, H., Djerassi, C. et Williams, D. H. (1964) *Structural Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry*, Holden Day, San Francisco.
6. Govindachari, T. R. et Parthasarathy, P. C. (1971) *Tetrahedron* 27, 1013.
7. Govindachari, T. R., Nagaratan, K. N., Parthasarathy, P. C., Rajagopalan, T. G. et Desai, H. K. (1974) *J. Chem. Soc.* 1413.
8. Foucher, J. P., Poussset, J. L., Cavé, Ad. et Cavé, A. (1974) *Phytochemistry* 13, 1253.
9. Foucher, J. P. (1974) Thèse Doct. Etat Pharmacie, Paris Sud.
10. Spectres enregistrés sur IEF 240, Institut d'Electronique Fondamentale, ORSAY, service du Dr. S. K. Kan que nous remercions d'avoir mis son appareil à notre disposition. cf: Kan, S. K., Gonord, P., Duret, C., Salset, J. et Vibet, C. (1973) *Rev. Sci. Instrum.* 44, 1725.
11. Brown, A. G., Lovie, J. C. et Thomson, R. H. (1960) *J. Chem. Soc.* 2355.
12. Schmid, R. (1964) *Bot. Jahrb.* 83, 1. (et références citées).
13. Govindachari, T. R., Parthasarathy, P. C. et Modi, J. D. (1971) *Indian J. Chem.* 9, 1042.

Phytochemistry, 1976, Vol. 15, pp. 818-820 Pergamon Press Printed in England.

LES ALCALOIDES TROPANIQUES DES FEUILLES DU *DUBOISIA MYOPOROIDES* NEOCALEDONIEN*

LOUIS COSSON† et JEAN-CHARLES VAILLANT‡
(collaboration technique: ETIENNETTE DEQUEANT‡)

†Laboratoire du Phytotron, C.N.R.S., 91190-Gif-sur-Yvette, France et Laboratoire de Physiologie Végétale, UER 59, Université Pierre et Marie Curie; ‡ Laboratoire du Phytotron, C.N.R.S., 91190-Gif-sur-Yvette, France

(Received 30 September 1975)

Key Word Index—*Duboisia myoporoïdes*; Solanaceae; geographic origin; tropane alkaloids; nicotine alkaloids; effects of climate.

Abstract—Leaves of *Duboisia myoporoïdes* growing in New-Caledonia or cultivated in a phytotron, have the same alkaloids: nicotine, nornicotine, scopolamine and hyoscyamine. Scopolamine is the major component of the tropane alkaloids. This alkaloidal content is very different of *D. myoporoïdes* growing in Australia

* Étude comparative des *Duboisia myoporoïdes* neocaledoniens et australiens.

INTRODUCTION

Le *Duboisia myoporoïdes* R.BR. (Solanacées) n'est connu, à l'état naturel, que dans deux régions: en Nouvelle-Calédonie [1-2] et dans la partie orientale de l'Australie [3]. La plupart des travaux consacrés à la composition alcaloïdique de cette espèce concernent les arbustes originaires d'Australie [4-6]. Les plantes néocalédoniennes n'ont été étudiées qu'une seule fois par Hills *et coll.* [7]. Ces auteurs n'ont pu analyser que sept échantillons, ce qui leur avait cependant permis de mettre en évidence, dans les feuilles, la présence simultanée, à côté des alcaloïdes tropaniques (scopolamine et hyoscyamine), des alcaloïdes nicotiniques. Il nous est donc apparu intéressant d'entreprendre des analyses plus approfondies et systématiques du *D. myoporoïdes* néocalédonien, dans le but d'étudier les analogies et les différences pouvant exister entre la population néocalédonienne et australienne. Chez cette dernière, Hills *et coll.* [4] avaient trouvé plusieurs génotypes conduisant à des compositions alcaloïdiques très différentes les unes des autres. Nous avons donc analysé les feuilles des nombreux échantillons prélevés sur les arbustes croissant spontanément en Nouvelle-Calédonie et celles des plantes issues de semis effectués dans les salles conditionnées du Phytotron du C.N.R.S. de Gif-sur-Yvette et cultivées selon les techniques utilisées lors de nos travaux précédents sur les *Datura* [8-9].

RESULTATS

Plantes obtenues par semis, au phytotron

Une première série d'analyses, effectuée par chromatographie sur couche mince, révèle la présence constante de la nicotine, de la nornicotine, de l'hyoscyamine, de la scopolamine et de quelques alcaloïdes secondaires (en faible quantité) quelles que soient les conditions climatiques sous lesquelles les plantes aient été cultivées. La nicotine et la nornicotine sont en quantité importante. Nous intéressant plus particulièrement aux alcaloïdes tropaniques, nous avons dosé la scopolamine et l'hyoscyamine des organes jeunes (extrémités apicales) et d'un mélange d'extrémités apicales et de feuilles adultes, prélevées à différents niveaux, en respectant les proportions pondérales réelles de chaque plante. Les plantes, âgées de 260 jours, avaient été cultivées, depuis leur semis, sous un éclairement quotidien de 16 hr et à une température de 24° le jour et de 22° la nuit. La moyenne des six dosages réalisés est de 6,80 g de scopolamine par kg de matière sèche pour les organes jeunes et de 4,33 g/kg pour le mélange de feuilles adultes et d'extré-

mités apicales. Les teneurs en hyoscyamine ne sont pas significativement différentes (1,09 et 0,78 g/kg). Pour les deux catégories d'organes la scopolamine est en quantité très supérieure à l'hyoscyamine. Les dosages ultérieurs ont été faits sur le mélange proportionnel de feuilles adultes et d'extrémités apicales, prélevées sur des arbustes âgés de 385 jours cultivés dans différentes conditions de température et d'éclairement (Tableau 1). Ils atteignaient une hauteur variant de 1,10 m (à 17° et 22-12°) à 4 m (à 24-17° et 24-22°). Chaque plante a été analysée individuellement.

L'étude statistique de ces moyennes montre que l'influence du climat (température et durée quotidienne de l'éclairement) sur l'accumulation de la scopolamine et de l'hyoscyamine est difficile à mettre en évidence. En effet, pour une même condition, les valeurs obtenues sont très diverses d'une plante à une autre: la teneur en scopolamine varie dans la proportion de 4 fois (1,95-8,10 g/kg en 24-22°), la quantité d'hyoscyamine 6 fois (0,60-3,80 g/kg à 24-17°). Cependant, malgré ces grandes variations individuelles quantitatives, le rapport scopolamine/hyoscyamine est toujours supérieur à 1 pour toutes les plantes et dans chaque condition climatique. Par ailleurs il est significativement plus élevé pour les températures fraîches (22-12° et 17°), l'accumulation de l'hyoscyamine étant proportionnellement plus faible, dans ces conditions, que celle de la scopolamine. Les analyses et les dosages effectués sur 25 autres plantes, cultivées en éclairage artificiel, confirment cette prédominance de la scopolamine sur l'hyoscyamine [10].

Plantes croissant spontanément en Nouvelle Calédonie

Parmi les échantillons récoltés sur les arbustes croissant spontanément en Nouvelle Calédonie, 91 provenaient d'une même station écologique. Ils avaient tous été prélevés au mois de Novembre, sur des plantes d'apparence homogène, au stade végétatif, mesurant environ 60 cm de hauteur. L'analyse de chaque échantillon, par chromatographie sur couche mince, révèle la présence constante de la nicotine, de la nor-nicotine, de l'hyoscyamine et de la scopolamine. Les alcaloïdes nicotiniques sont abondants, la nor-nicotine apparaissant en quantité égale ou supérieure à la nicotine. La teneur en hyoscyamine a été évaluée approximativement, se situant entre 0,20 et 0,60 g/kg de feuilles sèches (un seul échantillon ayant une valeur de 1 g/kg). Seule la scopolamine, en quantité toujours très supérieure à celle de l'hyoscyamine, a été dosée par chromatographie en phase gazeuse. La répartition de ces 91 échantillons, selon leur richesse en scopolamine, est la suivante: une faible proportion (7,70%) présente une teneur inférieure ou égale à 2 g/kg.

Tableau 1. Teneurs moyennes en scopolamine et en hyoscyamine des *D. myoporoïdes* cultivés durant 385 jours dans différentes conditions climatiques

Conditions climatiques: Température Eclairage quotidien	24-22°		24-17°		22-12°		17-17°	
	9 hr	16 hr	16 hr	16 hr	16 hr	16 hr	16 hr	16 hr
Teneurs* en scopolamine	4,70	4,06	2,84	3,01	1,85			
Hyoscyamine	1,60	2,09	1,24	0,55	0,32			
Rapport scopolamine/ hyoscyamine	4,30	2,05	2,80	6,10	6,70			
Nombre de plantes analysées	8	8	16	7	5			

* En g/kg de feuilles sèches.

Le groupe le plus important (40,6% des plantes analysées) a un taux de 3 à 4 g/kg. Plus d'un quart des plantes analysées (26,4%) contient des quantités relativement élevées de scopolamine, comprises entre 4,1 et 6,70 g/kg (parmi lesquelles 8 ont une teneur supérieure à 5 g/kg). Les autres plantes (25,30%) ont un taux de 2,1 à 3 g/kg. La moyenne générale des dosages est de 3,50 g/kg. Les dosages de 23 autres échantillons, prélevés à différentes époques de l'année, dans plusieurs sites écologiques, sur des arbustes parvenus à divers stades du développement, confirment la prédominance de la scopolamine sur l'hyoscyamine. Dans ce groupe, les valeurs obtenues pour la scopolamine sont plus faibles, 5 échantillons seulement ont un taux supérieur à 3 g/kg.

DISCUSSION

Ces résultats sont obtenus à partir d'un grand nombre d'analyses et de dosages, effectués sur les feuilles de *Duboisia myoporoïdes* néocalédoniens, cultivés dans diverses conditions climatiques et à différents stades du développement. Ils permettent de confirmer et de généraliser les travaux de Hills et coll. [7]: la présence simultanée des alcaloïdes nicotiniques (nicotine et nor-nicotine) et des alcaloïdes tropaniques (scopolamine et hyoscyamine). Par ailleurs, ils mettent en évidence la prédominance constante de la scopolamine sur l'hyoscyamine. Ce caractère semble être particulier à la population des *D. myoporoïdes* néocalédoniens et les oppose aux *D. myoporoïdes* australiens chez lesquels Hills et coll. [4] distinguent plusieurs génotypes selon l'alcaloïde tropanique prépondérant. L'hétérogénéité génétique aboutit à des spectres alcaloïdiques différents dans la population australienne alors qu'il n'existe qu'un seul type dans la population néocalédonienne. Les variations trouvées dans celle-ci ne concernent que la plus ou moins grande quantité de scopolamine accumulée dans les feuilles.

Malgré ces variations quantitatives individuelles, nous avons pu montrer que des températures fraîches étaient défavorables à l'accumulation de l'hyoscyamine. Ce résultat s'oppose à celui de Hills et coll. [5] qui, dans des conditions expérimentales différentes, ne trouvaient que des variations globales de la teneur en alcaloïdes tropaniques chez le *D. myoporoïdes* australien.

Le nombre important d'échantillons prélevés en Nouvelle-Calédonie nous permet de montrer que certaines plantes ont une teneur intéressante en scopolamine. Par ailleurs, certaines teneurs obtenues en culture artificielle au Phytotron, étant très élevées, il semble possible d'émettre l'hypothèse qu'un double travail de sélection et d'étude des conditions écologiques favorables à l'accumulation des alcaloïdes tropaniques, permettrait peut-être l'exploitation du *Duboisia myoporoïdes* néocalédonien.

EXPERIMENTALE

Les plantes, cultivées en conditions artificielles au Phytotron, sont obtenues à partir de semis effectués dans de la ver-

miculite. Elles sont ensuite rempotées sur de la laine de verre (verrane), recouverte de vermiculite. Les arrosages sont conduits selon la méthode déjà décrite dans nos précédentes publications [8-9]. L'humidité relative des saillies est de 65-70%. La technique employée pour l'extraction et la purification des alcaloïdes est une adaptation de celle précédemment décrite [11]. Elle consiste essentiellement en une stabilisation extractive par EtOH à l'ébullition suivie d'une évaporation et d'une purification à l'aide de H₂SO₄ à 1% et CHCl₃. L'analyse qualitative est effectuée par CM de silice, dans le solvant iso-BuOH-HCl-H₂O (7-1-2) et le réactif de Dragendorff [12]. Cette méthode permet une bonne séparation de la scopolamine et de l'hyoscyamine (*R_f* = 0,30 et 0,40) les alcaloïdes nicotiniques, par contre, migrant très peu. Cette première analyse est utilisée pour évaluer approximativement les teneurs en scopolamine et en hyoscyamine et pour déterminer la quantité d'étalon interne nécessaire au dosage ultérieur par chromatographie en PG. Une autre CM de silice est mise à développer dans le mélange, CHCl₃-EtOH-NH₄OH à 28% (170-28-4). Ce solvant aboutit à une séparation complète des quatre alcaloïdes principaux et des alcaloïdes secondaires. Dans ces conditions, les *R_f* sont les suivants: hyoscyamine = 0,10, nor-nicotine = 0,20, scopolamine: 0,50, nicotine = 0,60. L'hyoscyamine et la scopolamine sont dosées par chromatographie en phase gazeuse, l'étalon interne étant l'homatropine. L'extrait alcaloïdique purifié, en soln dans CHCl₃ est silanisé (0,6 ml de B.S.T.F.A. pour 10 mg d'alcaloïdes), à la température du laboratoire pendant 12 hr. L'appareil est muni d'un détecteur à ionisation de flamme et d'une colonne en acier inoxydable, longue de 1,50 m, d'un diamètre de 1/8° de pouce, renfermant 5% de SE 52 sur Gas-Chrom-Q 80-100 mesh. Le gaz vecteur est N₂ (débit 25 ml/Min.). Les températures sont de 240° pour la colonne et l'injecteur, de 225° pour le détecteur.

Rémerciement—Les auteurs remercient bien vivement M. Potier (Directeur de l'I.C.S.N. du C.N.R.S. de Gif-sur-Yvette), M. Corbasson (Directeur adjoint des recherches forestières du C.T.F.T.), M. Goutarel (Directeur de recherches au C.N.R.S.) et M. le Pr. Barrau, qui ont beaucoup contribué à la mise en oeuvre de ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

1. Barrau, H. (1957) *Rev. Agr. Nouv. Calédon.* **5**, 453.
2. Rageau, J. (1973) *Les Plantes Médicinales de la Nouvelle Calédonie*. (Trav. de doc. O.R.S.T.O.M.) Vol. 23, 101.
3. Barnard, C. (1952) *Econ. Botan.* **6**, 3.
4. Loftus Hills, K., Bottomley, W. and Mortimer, P. I. (1954) *Australian J. Appl. Sci.* **5**, 258.
5. Loftus Hills, K., Bottomley, W. and Mortimer, P. I. (1954) *Australian J. Appl. Sci.* **5**, 291.
6. Coulson, J. F. and Griffin, W. J. (1967) *Planta Med.* **15**, 459.
7. Loftus Hills, K., Bottomley W. and Mortimer, P. I. (1953) *Nature* **171**, 435.
8. Cosson, L., Chouard, P. et Paris, R. R. (1966) *Lloydia* **29**, 19.
9. Cosson, L. (1969) *Phytochemistry* **8**, 2227.
10. Vaillant J. Ch. (1972) *Mémoire du D.E.P.S. Univ. Paris XI*, p. 26.
11. Paris, R. R. et Cosson, L. (1965) *C.R. Acad. Sci. Paris* **260**, 3148.
12. Rousselet, R. (1963) Th. Dr. Phcie. Univ. Paris, p. 35.