

SHORT REPORTS

 γ -GLUTAMYLTYRAMINE DE *TEPHROSIA NOCTIFLORA*

P. FORGACS,* T. SEVENET† et A. JEHANNO*

* Centre de Recherches des Laboratoires Roger Bellon, 90 rue Marcel Bourdarias, 94140–Alfortville, France;

† Laboratoire des Plantes Médicinales, Montravel, B.P.1264, Nouméa, Nouvelle-Calédonie

(Revisé reçu le 19 octobre 1979)

Key Word Index—*Tephrosia noctiflora*; Leguminosae; non-protein amino acids; γ -glutamylamide; γ -glutamyltyramine; tryptophan; tyramine; tyrosine.

INTRODUCTION

Les parties aériennes de *Tephrosia noctiflora* Boj. Légumineuse de Nouvelle-Calédonie, étudiée ici pour la première fois, renferment la γ -glutamyl tyramine, nouvel amide à partir d'une plante.

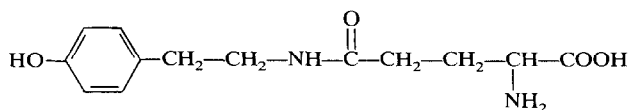
RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les tiges feuillées de *Tephrosia noctiflora* Boj. sont broyées, puis infusées dans l'eau distillée. Après filtration, la solution est passée sur une colonne de résine adsorbante apolaire type XAD₂. Le lavage de la colonne à l'eau distillée, permettant d'éliminer un ballast constitué entre autres de sucres et de sels minéraux, est suivi d'une élution des produits adsorbés sur résine à l'aide d'une solution hydro-alcoolique. On obtient ainsi une fraction qui, amenée à sec, donne une poudre de couleur chamois. Une étude chimique montre la présence de flavonosides et d'amino acides.

L'hydrolyse acide de ce composé menée dans HCl (N) conduit au bout d'une heure à reflux, donc très rapidement, à l'apparition en CCM de deux spots identifiés à la tyramine et à l'acide glutamique (identification confirmée par passage de l'hydrolysateur auto analyseur Technicon. Ce comportement est la présomption de l'existence d'une liaison très labile type γ -glutamyl amide et non d'une liaison peptidique habituelle.

L'ester méthylique préparé classiquement à partir de l'acide (MeOH–HCl, 2 hr) montre en spectrométrie de masse les fragments caractéristiques: M^+ 280, pics à m/e 221 ($M - CO_2Me$), 161 $\overset{+}{N}H_3 - CO - (CH_2)_2 - CH - (NH) - CO_2Me$ 144 ($CO^+ - (CH_2)_2 - CH - (NH) - CO_2Me$), et les autres pics attendus à m/e 121, 120, 108, 107.

Nous proposons pour le composé isolé la structure de γ -glutamyltyramine ou L-glutamine, N-2-(4 hydroxyphényl)éthyl (1).



1

L'étude de ces derniers par chromatographie couche mince, indique l'existence d'un spot se révélant rouge vif à la ninhydrine après chauffage. La comparaison avec des amino acides de référence, ainsi que la révélation colorée inhabituelle pouvaient faire penser à un amino acide original. La fraction provenant de l'élution XAD₂ a donc été passée sur une résine échangeuse d'ions type IR 120 H⁺ afin d'éliminer les flavonosides. Après lavage de la colonne à l'eau entraînant les flavonosides non fixés, l'élution par une solution d'ammoniaque conduit à l'obtention d'une fraction brute riche en amino acides. Sur l'extrait sec de celle-ci, les reprises successives par l'éthanol puis le méthanol à reflux permettent d'enrichir en un produit inconnu. Ce dernier peut-être cristallisé dans un mélange eau-propanol.

Récemment en biologie animale, la γ -glutamylation enzymatique d'amines dans le cerveau du rat, après leurs injections intraventriculaires, a été observée par Tsuji *et al.* [1], notamment avec la tyramine. Nous signalons que nous n'avons pas trouvé ce produit dans les espèces telles que *Tephrosia purpurea*, *T. candida*.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

La plante a été récoltée en septembre 1975 sur les pentes du Montravel, en Nouvelle-Calédonie par T. Sévenet (Référence herbier, Sévenet 1065). Les spectres UV ont été déterminés en solution dans HCl, les IR ont été enregistrés dans le KBr, les points de fusion ont été pris au Köfler

(corrigés). Les spectres de masse ont été effectués avec l'appareil type MS-9. Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés dans HCl sur polarimètre Jobin-Yvon, type Bourgogne II.

Extractions et séparations. 1,25 kg de tiges feuillées sont broyées et infusées dans 7,5 l. d'H₂O bouillante. Après essorage et rinçage la phase aqueuse est passée sur colonne d'Amberlite XAD₂ (6×90 cm). On lave la colonne par 7 l. d'H₂O distillée. La désorption des produits fixés se fait par de l'EtOH à 80% (3 l.) La soln hydroalcoolique est évaporée à sec et le résidu 30 g repris dans 300 ml d'H₂O est passé sur résine Amberlite IR 120 H⁺ (2,5×60 cm). Après lavage par 3 l. de MeOH à 50%, on élue par 3 l. de NH₄OH (N). Cette soln ammoniacale donne 4,3 g d'extrait sec. Les reprises à reflux successives par EtOH (5×250 ml) puis MeOH (5×200 ml) à reflux montrent dans les fractions 1-3 (EtOH) la présence de tryptophane (R_f 0,46), tyramine (R_f 0,47), tyrosine (R_f 0,33) ainsi que d'un spot de R_f 0,26 rouge vif lors de la révélation par la ninhydrine [2] après chauffage à

140°. La CCM est effectuée sur gel de Si avec le mélange éluant EtOAc-MeCOEt-HCO₂H-H₂O (5:3:1:1). Les fractions 4 et 5 (EtOH) et 1-5 (MeOH) très riches en produit se révélant rouge sont réunies et concentrées à sec (750 mg). La reprise à 80° par le mélange PrOH-H₂O (10:90) laisse cristalliser 600 mg d'un produit qui donne une tache en CCM (R_f 0,26), F. 218-219°. (Analyse: Trouvé: C, 58,63; H, 6,97; N, 10,61. Résultat calculé pour C₁₃H₁₈N₂O₄: C, 58,63; H, 6,81; N, 10,52%). $[\alpha]_D^{20} + 18^\circ$ (HCl N. c 1); Spectre UV: $\lambda_{\max}^{\text{HCl N}} \text{ nm (log } \epsilon)$: 230 (3,8), 280 (3,23). Spectre IR: NHCO à 1640 cm⁻¹.

BIBLIOGRAPHIE

1. Tsuji, M., Matsuoka, Y. et Nakajima, T. (1977) *J. Neurochem.* **29**, 633.
2. Fahmy, R. A. et Niederwieser, A. (1961) *Helv. Chim. Acta* **44**, 2022.

DEPENDENCE OF THE HYDROCARBON CONSTITUENTS OF THE LEAF WAXES OF *KHAYA* SPECIES ON LEAF AGE

O. O. P. FABOYA, J. I. OKOGUN and D. R. GODDARD

Department of Chemistry, University of Ibadan, Ibadan, Nigeria

(Revised received 28 August 1979)

Key Word Index—*Khaya*: leaf waxes; GLC; alkanes.

Abstract—The hydrocarbon constituents of the leaf waxes of eight species of *Khaya* were analysed for taxonomic purposes using GLC. The leaf waxes contained neither isoalkanes nor alkenes and the bulk of the *n*-alkanes were in the range of C₂₅ to C₃₃, odd-carbon number compounds predominating. It was found that the percentage composition of the *n*-alkane constituents of the leaf waxes varied with the age of leaves, young leaves having *n*-C₂₉ as the most abundant alkane, whereas older leaves had *n*-C₃₁.

INTRODUCTION

Trees of the Meliaceae have received much attention from chemists [1] and a large number of compounds have been isolated [2-4]. The distribution of these compounds form a pattern common to the family [1].

The object of the present work was to examine the chemotaxonomic importance of alkanes in the leaf waxes of eight species of *Khaya*. We also wished to examine whether there was any variation in the alkane composition of the waxes and the age of the leaves.

RESULTS AND DISCUSSION

Eight species of *Khaya* growing on the campus of the University of Ibadan were chosen for the investigation. These were *Khaya senegalensis*, *K. anthotheca* (Uganda), *K. anthotheca* (Ghana), *K. ivorensis*, *K. grandifoliola* (Uganda), *K. nyasica* (amani), *K. grandifoliola* (Ife) and *K. madagascariensis*.

During a preliminary investigation it was found that the hydrocarbon composition of the leaf waxes varied with the age of the leaves (Table 1). In both cases,