

## Flavonoïdes et anthocyanes

par Olivier DANGLES

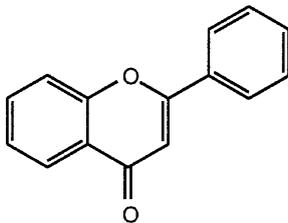
Laboratoire de chimie des polyphénols  
 Université Louis Pasteur - 67000 Strasbourg  
 et Michel DELUZARCHE  
 Spé P' - Lycée Kléber - 67000 Strasbourg

### 1. GÉNÉRALITÉS

Quoi de commun entre le rouge des coquelicots dans un champ de blé (de plus en plus rares en fait), le jus des cerises qui tache la bouche des enfants qui les cueillent en été ou la robe somptueuse d'un vin de bordeaux ? La réponse est à rechercher parmi les molécules constituant la grande famille des flavonoïdes.

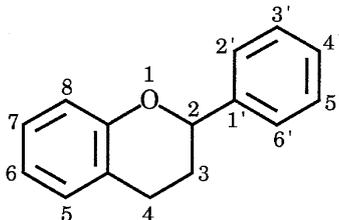
C'est pourquoi, à l'heure où les couleurs sont à l'honneur dans les programmes de chimie, il nous a paru intéressant de présenter une catégorie de colorants «naturels».

Les flavonoïdes tirent leur nom de la flavone (du latin flavus, jaune).

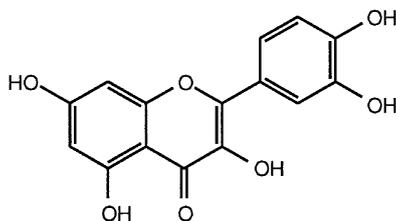


La flavone

La grande majorité des flavonoïdes contient le squelette suivant :

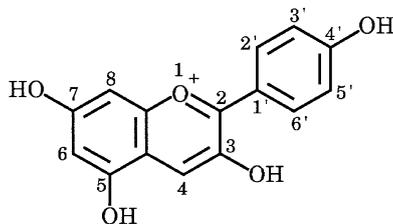


Les principaux substituants de ce squelette de base sont les groupements hydroxyle, méthoxyle et O- $\beta$ -D-glucosyle. Ils donnent à la molécule une solubilité minimale dans l'eau, milieu naturel des flavonoïdes. Citons, par exemple, la quercétine de la famille des flavonols ou 3-hydroxyflavones, qui contribue à la couleur des feuilles à l'automne. Sa couleur jaune est habituellement masquée par la chlorophylle, mais réapparaît lorsque la biosynthèse de cette dernière s'arrête à l'automne [1].



Quercétine

Les anthocyanes constituent une sous-famille de flavonoïdes particulièrement importante car ce sont, avec les chlorophylles et les caroténoïdes, les principaux pigments\* végétaux [2]. Dans une anthocyane, la partie responsable de la couleur (chromophore) s'appelle l'anthocyanidine et présente une structure de cation 3,5,7,4'-tétrahydroxyflavylium donnée par la forme mésomère suivante :

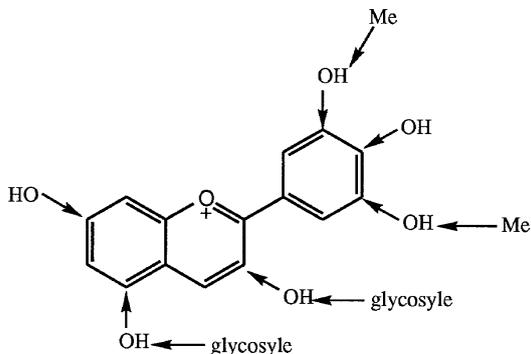


Dans les anthocyanes naturelles, le groupement OH en position 3 est toujours glycosylé et celui en position 5 l'est très fréquemment. Les anthocyanes se distinguent par la nature des sucres impliqués dans leurs

\* Le terme «pigment» est communément utilisé par les chimistes et biochimistes des plantes, bien que l'état naturel des anthocyanes ne soit que très rarement l'état solide mais plutôt celui de la solution aqueuse (homogène). De même, les copigments, dont il sera question plus loin dans le texte, sont des espèces en solution dans leur milieu naturel.

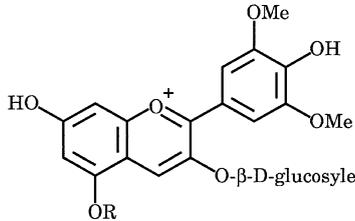
structures, qui, eux-mêmes, peuvent être acylés par des acides carboxyliques aromatiques (acide benzoïque et acide cinnamique diversement hydroxylés), mais aussi par la nature de l'anthocyanidine qui peut présenter différents substituants sur les positions 3' et 5'. Voici les principales anthocyanidines :

	3'	5'
Pélargonidine	H	H
Cyanidine	OH	H
Delphinidine	OH	OH
Péonidine	OMe	H
Pétunidine	OMe	OH
Malvidine	OMe	OMe



Les colorants rouges, bleus, violets des fleurs et des fruits sont très souvent des anthocyanes. Le mot vient d'ailleurs du grec anthos qui veut dire fleur et de kuanos (qui a donné cyan) qui veut dire bleu. Ce sont elles qui sont responsables des couleurs éclatantes de certains fruits (raisins rouges, framboises, cerises), de fleurs (coquelicots, géraniums) ou des couleurs rouges des feuilles d'érable à l'automne. Leur présence dans les feuilles a surtout pour but d'absorber le rayonnement UV qui pourrait être dangereux pour les cellules.

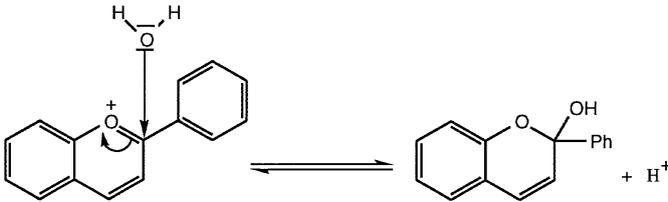
A titre d'exemples, la malvine et l'œnine sont deux anthocyanes à chromophore malvidine très courantes :



R =  $\beta$ -D-glucosyle : la malvine, qui tire son nom de la mauve,  
R = H : l'œnine, responsable de la couleur du vin rouge.

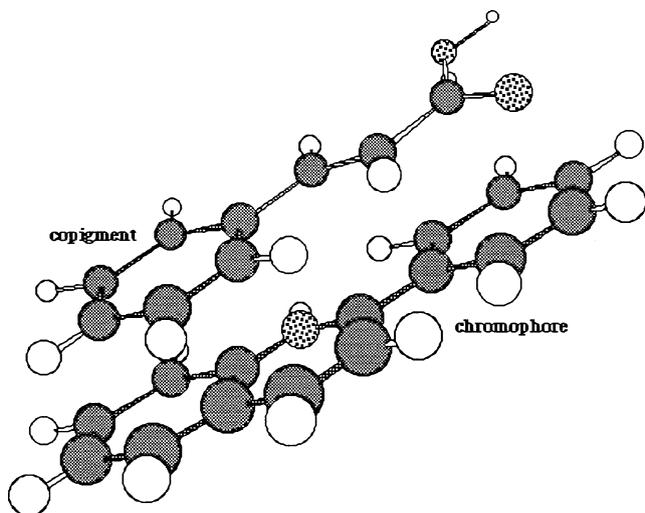
## 2. PROPRIÉTÉS CHIMIQUES ET COPIGMENTATION

Dans leur milieu naturel, les anthocyanes sont en solution dans des micro-gouttelettes (vacuoles) dispersées à la surface des fleurs et des fruits. Des mesures de micro-potentiométrie ont montré que ces solutions aqueuses sont neutres ou faiblement acides (pH compris entre 3 et 8). Paradoxalement, une anthocyane est par elle-même très peu colorée dans de telles conditions. En effet, le cycle central des anthocyanes est très sensible aux réactifs nucléophiles et, en particulier, l'eau réagit en position 2 pour conduire après déprotonation à un hémiacétal incolore selon le schéma suivant [3] :



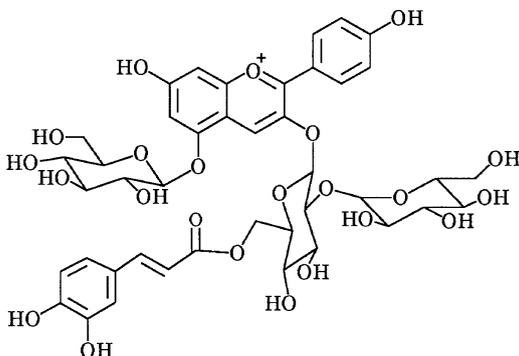
Une anthocyane naturelle passe principalement sous forme d'hémiacétal lorsque le pH de la solution aqueuse s'élève au dessus de 2 ou 3. Heureusement, d'autres molécules présentes dans les vacuoles interviennent pour stabiliser la couleur des anthocyanes : c'est le phénomène de copigmentation [4]. A la différence de l'hémiacétal, le cation flavylium possède un système tricyclique quasi-plan, porteur d'un ensemble d'électrons  $\pi$  complètement délocalisés. Ces caractéristiques lui permettent de former avec une molécule, présentant au minimum un cycle aromatique, un complexe moléculaire (non-cova-

lent) de type  $\pi$  par superposition ou empilement des systèmes aromatiques.



La copigmentation, qui n'opère qu'en milieu aqueux, protège l'anthocyanidine de l'attaque nucléophile de l'eau et limite donc la formation de l'hémiacétal incolore. En d'autres termes, le copigment déplace l'équilibre cation flavylium-hémiacétal dans le sens de la formation du cation flavylium, sélectivement stabilisé par le copigment. La couleur, plus intense, est maintenant due au complexe moléculaire anthocyane-copigment ; elle ne dépend donc plus seulement de la structure de l'anthocyane mais aussi de celle du copigment (le plus souvent incolore par lui-même) au contact de l'anthocyane. Ainsi, la copigmentation produit souvent une forte coloration violette dans des solutions d'anthocyane neutres ou faiblement acides qui, en l'absence de copigment, étaient d'une pâle couleur rouge ou orange. C'est d'ailleurs ce phénomène qui est à la base de l'extraordinaire variété de tons que l'on observe dans la nature puisqu'à partir d'un petit nombre de chromophores, une grande diversité de couleurs peut être produite selon la structure des copigments en jeu. De nombreuses molécules naturelles présentes dans les plantes sont capables de jouer le rôle de copigments d'anthocyane : les purines, les dérivés hydroxylés des acides benzoïque et cinnamique et surtout les flavones dont la structure, proche de celle des anthocyanes, permet un bon contact moléculaire de copigmentation. Notons également que certaines anthocyanes sophisti-

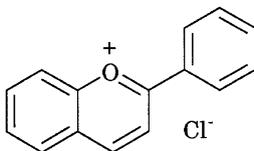
quées possèdent dans leur structure leur propre copigment ; c'est le cas des anthocyanes dont les groupements glycosyles sont acylés par des acides carboxyliques aromatiques [2, 5]. La copigmentation opère alors de manière intramoléculaire et se traduit par un repliement de la molécule d'anthocyane sur elle-même pour permettre le contact de l'anthocyanidine et du ou des résidu(s) d'acide aromatique. Voici l'exemple d'une anthocyane naturelle dont la couleur est stabilisée par copigmentation intramoléculaire:



Signalons enfin que les anthocyanes possédant une structure catéchol (ortho-dihydroxybenzène) dans leur chromophore, c'est-à-dire les dérivés de la cyanidine, de la delphinidine et de la pétunidine, sont capables de former des complexes par chélation d'ions métalliques à forte charge positive tels que  $\text{Al}^{3+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$ . Il est probable que la combinaison de la complexation métallique et de la copigmentation (formation de complexes ternaires anthocyane-copigment-ion métallique) soit à l'origine de la couleur bleue présentée par certaines fleurs [2].

### 3. MANIPULATION

La synthèse qui est proposée ici, conduit à ce qui peut être considéré comme le modèle chimique d'anthocyane le plus simple : le chlorure de flavylum (2-phényl-1-benzopyrylium) de formule :





L'addition d'éther au filtrat permet de compléter la précipitation du chlorure de flavylum. Le rendement global est de l'ordre de 85 %.

### **c - Exploitation**

Préparer une solution  $10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$  de chlorure de flavylum dans le méthanol. Nous appellerons par la suite **A** cette solution qui va nous servir à préparer quatre autres solutions :

**1** : 5 mL de **A**, compléter à 100 mL par addition d'une solution aqueuse de HCl  $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ .

**2** : 5 mL de **A**,  $10^{-3}$  moles d'acide gallique (acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque), compléter à 100 mL par addition d'une solution de HCl  $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ .

**3** : 5 mL de **A**, compléter à 100 mL par addition d'une solution tampon à pH 4.

**4** : 5 mL de **A**,  $10^{-3}$  moles d'acide gallique, compléter à 100 mL par addition d'une solution tampon à pH 4 (si nécessaire, ramener le pH à 4 par addition de quelques gouttes de soude concentrée).

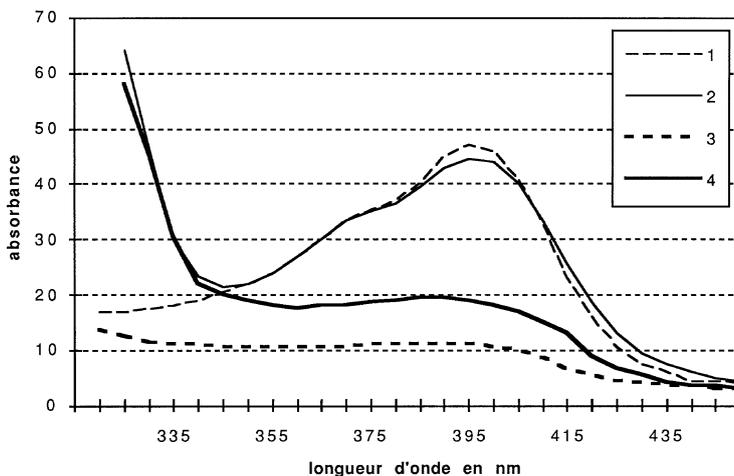
Les spectres d'absorptions UV-visibles des solutions  $5 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$  ainsi obtenues sont présentés ci-après avec la même numérotation. Le spectre **1** est celui de l'ion flavylum ; en l'absence de substituant, sa bande d'absorption caractéristique se situe à la limite des domaines visible et ultra-violet (autour de 400 nm). Quand le pH est amené au delà de 3, de grandes quantités d'hémiacétal (absorbant en dessous de 300 nm) se forment et la solution se décolore (spectre **3**). La couleur peut être régénérée, soit complètement par réacidification, soit partiellement mais avec changement de ton par addition à pH fixe de molécules aromatiques variées (copigments) en grand excès par rapport au pigment (spectre **4**). Il est à noter que l'addition de copigment en milieu acide n'a que peu d'effet (spectre **2**).

### **Remarques**

**a** - Si  $K_h$  est la constante thermodynamique de l'équilibre de formation de l'hémiacétal, nous avons :  $K_h = [\text{H}^+][\text{hémiacétal}] / [\text{cation flavylum}]$  et  $\text{p}K_h = 3,0$  à  $25^\circ\text{C}$  [2].

**b** - Dans l'exemple choisi ici, les changements de couleurs sont en fait peu perceptibles à l'œil nu. Ils le sont beaucoup plus avec les ions

flavylum naturels qui absorbent résolument dans le domaine visible (autour de 500 nm).



#### *d - Séparation de colorants par chromatographie sur papier*

Écraser une cerise, déposer une goutte de jus sur papier ou sur couche mince de silice. Réaliser l'élution en utilisant comme solvant d'élution un mélange butan-1-ol/acétone/eau (4/1/5) (système biphasique, prendre la phase supérieure pour l'élution). Comparer à la malvine du commerce (Roth).

On peut faire la même chose avec une goutte de vin rouge et comparer à l'œnéine.

#### **BIBLIOGRAPHIE**

- [1] P. ATKINS - Molécules au quotidien, InterEditions, 1989.
- [2] T. GOTO et T. KONDO - *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 1991, **30**, 17-33.
- [3] R.-A. McCLELLAND et S. GEDGE - *J. Am. Chem. Soc.*, 1980, **102**, 5838-5848.
- [4] O. DANGLES et R. BROUILLARD - *Can. J. Chem.*, 1992, **70**, 2174-2189.
- [5] O. DANGLES, N. SAITO et R. BROUILLARD - *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, **115**, 3125-3132.