

D'UN HYBRIDE INTERGENÉRIQUE FERTILE DE LA FAMILLE
DES APOCYNACEES

par

C. DELAUDE et R. HULS

Institut de Chimie, Université de Liège,
Sart Tilman par 4000 Liège 1 (Belgique)

H. BREYNE

Herbarium INERA, B.P. 615, Kinshasa 1 (Zaïre);

P. THEPENIER, G. MASSIOT et L. LE MEN-OLIVIER,

Faculté de Pharmacie, E.R.A. au C.N.R.S. n° 319
51, rue Cognacq-Jay, F-51096 Reims Cedex (France).

ABSTRACT

A morphological study of spontaneous hybrid growing in the Botanical Gardens at Kisantu (Zaïre) indicates, as probable parents for the plant, *Daturicarpa elliptica* and *Pterotaberna inconspicua*. The alkaloid composition of the seeds and the leaves of the hybrid is compared with those of the presumed parents.

Un semis de graines de *Daturicarpa elliptica* Stapf. (Apocynaceae), réalisé à l'époque par le R.P. H. Callens au Jardin Botanique de Kisantu (Zaïre), a engendré, aux côtés de plantes normales, un arbuste porteur de fruits à méricarpes à moitié soudés et couverts de protubérances irrégulières, jamais rencontré par ailleurs. Ce végétal unique, entretenu au sein de la fort belle collection vivante d'Apocynaceae du Jardin de Kisantu, est catalogué "Hybride sp." (Apocynaceae). Il a été décrit par Hürlimann⁽¹⁾.

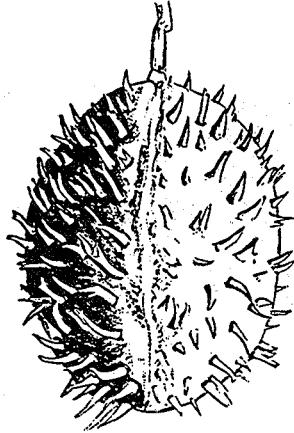
Il se différencie de *Daturicarpa elliptica* par :

- 1) une pubescence moindre à la base ventrale du connectif des anthères,
- 2) un nombre de nervures latérales plus élevé,
- 3) des fruits à méricarpes soudés dans leur moitié inférieure alors qu'ils sont séparés chez *Daturicarpa elliptica*.

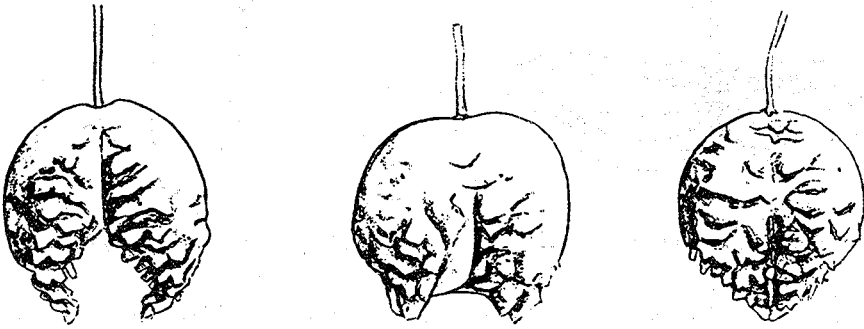
Végétativement très semblables, l'hybride et *Daturicarpa elliptica* se distinguent aisément par leurs fruits comparés au Tableau 1.

Présenté par R. Huls, le 21 juin 1984.

TABEAU 1



Fruit de *Daturiocarpa elliptica* Stapf

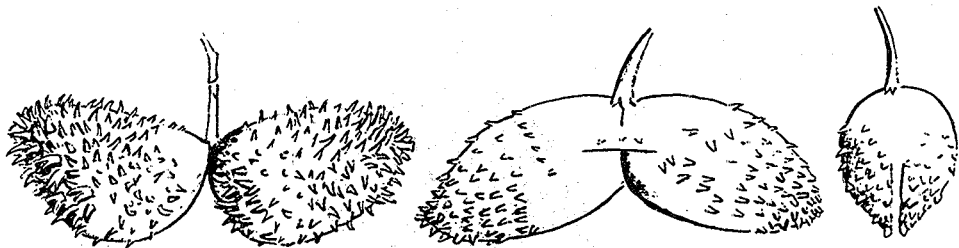


Formes limites et forme intermédiaire des fruits récoltés sur l'hybride de Kisantu. Des herbiers de ces formes végétales ont été déposés au Jardin Botanique National de Bruxelles sous les numéros Breyne 3237 et 3533.

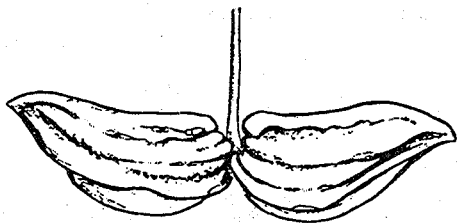
L'hybride de Kisantu, que nous dénommerons F_1 , produit des graines à embryon développé. Nous avons semé de ces graines. Elles ont donné naissance à cinq plants élevés en pleine terre. Nous les dénommons hybrides F_2 .

En leur troisième année, ils ont fleuri et porté des fruits. Les formes limites et une forme intermédiaire des fruits récoltés sur les hybrides F_2 sont reproduites au Tableau 2 et comparées aux fruits de *Pterotaberna inconspicua* (Stapf) Stapf et de *Tabernanthe iboga* Baill..

TABLEAU 2



Formes limites et intermédiaire des fruits des hybrides F_2 . Un herbier témoin de ces formes végétales est déposé au Jardin Botanique National de Bruxelles sous le numéro Breyne 4421.



Fruit de *Pterotaberma inconspicua*



Fruit de *Tabernanthe iboga*

La morphologie des fruits des hybrides F_2 démontre que la plante anormale de Kisantu est un hybride et non un mutant. La parenté directe entre l'hybride F_1 et *Daturicarpa elliptica* est une certitude puisque l'hybride F_1 naquit d'une graine récoltée sur un *Daturicarpa elliptica*. Il existe une intéressante analogie entre les fruits de *Daturicarpa* et ceux des hybrides de la seconde génération : alors que les fruits des hybrides de la première génération présentent des plis et des replis, les fruits de *Daturicarpa* et des hybrides de la seconde génération sont couverts de protubérances molles. Cette réapparition, chez les hybrides de la seconde génération, d'un caractère précis et suffisamment particulier de l'espèce *Daturicarpa elliptica* confirme, si besoin était, que les hybrides sont issus de *Daturicarpa elliptica*.

Les formes limites des hybrides F_2 se rapprochent l'une du fruit de *Daturicarpa elliptica*, l'autre du fruit de *Pterotaberma inconspicua*. Ce phénomène de disjonction des caractères parentaux, survenu au cours de la seconde génération, révèle que les géniteurs de l'hybride F_1 sont *Daturicarpa elliptica* x *Pterotaberma inconspicua*. L'argumentation s'oppose à celle de Hürlimann qui attribuait pour parents à l'hybride *Daturicarpa elliptica* x *Tabernanthe iboga*. L'argumentation avancée par cet auteur est la suivante : la soudure observée sur la moitié inférieure du fruit de l'hybride

F₁ ne peut s'expliquer que par le croisement d'une plante à fruits à méricarpes soudés avec une plante à fruits à méricarpes séparés. Chez *Daturicarpa elliptica*, les méricarpes sont séparés et l'espèce appartient à la sous-famille des Tabernaemontanoïdeae. *Tabernanthe iboga* était la seule espèce de la sous-famille des Tabernaemontanoïdeae à fruits à méricarpes soudés trouvée dans le voisinage immédiat de l'arbuste de *Daturicarpa elliptica* porteur des graines qui ont donné naissance à l'hybride. Cette proximité entre les espèces et la prise en considération de deux critères taxonomiques secondaires (pubescence à la base du connectif des anthères et nervation) ont donné à Hürlimann l'idée d'une probable hybridation *Daturicarpa elliptica* x *Tabernanthe iboga* pour expliquer l'origine de l'arbuste particulier de Kisantu. L'examen des fruits de la seconde génération d'hybrides indique plus probablement un croisement *Daturicarpa elliptica* x *Pterotaberna inconspicua*, en tenant compte des faits et remarques suivantes :

- 1) *Pterotaberna inconspicua* appartient également à la sous-famille des Tabernaemontanoïdeae et se trouvait au Jardin de Kisantu à proximité du *Daturicarpa elliptica*, parent de l'hybride.
- 2) *Daturicarpa elliptica*, *Pterotaberna inconspicua* et *Tabernanthe iboga* se distinguent très aisément par leurs fruits, mais présentent, par contre, des caractères végétatifs et floraux très semblables. Cette similitude, témoin certain d'une grande affinité génétique entre ces plantes, rend leur identification difficile en l'absence de fructification.

Le fruit constitue, pour ces espèces, le caractère qui présente la plus grande valeur taxonomique. Nous l'avons retenu comme seul critère de leur différenciation sans considérer les caractères végétatifs et floraux trop imprécis et assez variables.

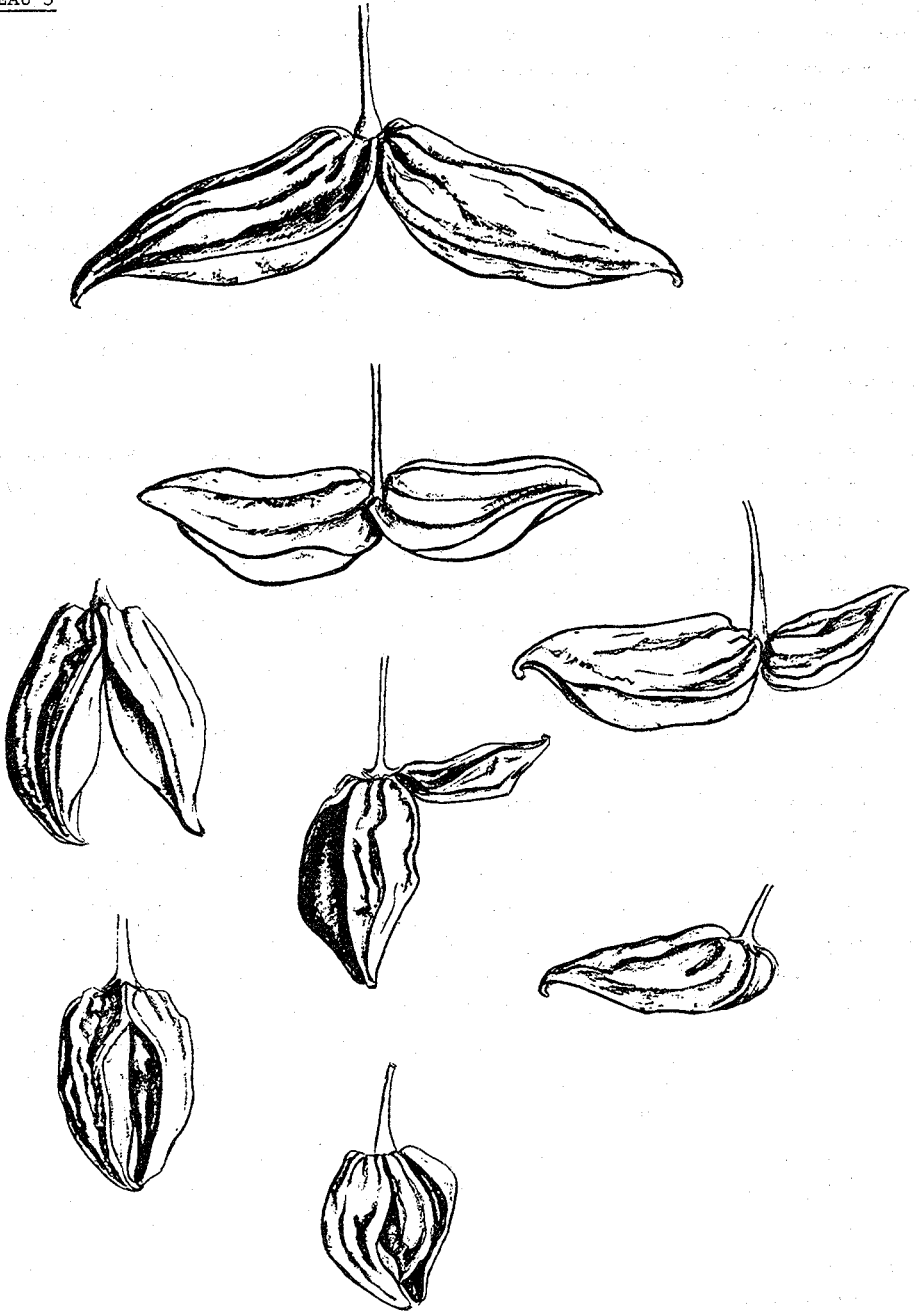
- 3) Les plantes issues du croisement *Daturicarpa elliptica* x *Pterotaberna inconspicua* pourraient, elles aussi, porter des fruits partiellement soudés. En effet, s'il est vrai que chez *Daturicarpa elliptica* les carpelles sont généralement séparés, on observe aussi des fruits à carpelles concrescents à la base et, exceptionnellement, il se rencontre des fruits à carpelles complètement soudés. De l'examen de *Daturicarpa elliptica* vivants et de spécimens d'herbier, nous avons constaté que, fréquemment, chez cette espèce un des deux carpelles avorte pour produire le fruit sphérique à protubérances molles.

Les considérations qui précèdent expriment une certaine probabilité d'obtenir des fruits partiellement soudés sur un hybride *Daturicarpa elliptica* x *Pterotaberna inconspicua*.

Une autre observation rend aussi compte de la possibilité d'obtenir des fruits partiellement soudés suite à ce croisement.

La littérature affirme que les fruits de *Pterotaberna inconspicua* sont à méricarpes libres. Dans le Tableau 3, figurent les différents types de fruits de *Pterotaberna inconspicua* que nous avons rencontrés. Les fruits peuvent être à méricarpes presque totalement soudés.

TABLEAU 3



Différents types de fruits de *Pterotaberna inconspicua* (Apocynaceae).

Hürlimann avait fait remarquer l'inconstance de la forme et des dimensions des fruits de *Tabernanthe iboga*; nous constatons aussi la grande variabilité des fruits de *Pterotaberna inconspicua*.

Comme les caractères morphologiques, les constituants chimiques des végétaux méritent d'être retenus comme critères ayant valeur significative pour exprimer l'identité de plantes ou traduire leurs affinités. Les espèces de la sous-famille des Tabernaemontanoïdeae sont réputées pour contenir, sans exception, des alcaloïdes indoliques.

Pour recouper les données de la morphologie, il nous paraissait intéressant de tenter d'apprécier les affinités entre l'hybride, *Daturicarpa elliptica*, *Pterotaberna inconspicua* et *Tabernanthe iboga* par la comparaison du contenu alcaloïdique de ces espèces.

Pour des motifs évidents de rareté de la matière première, nous n'avons étudié que les parties "renouvelables" de l'hybride, les feuilles et les graines; deux récoltes ont été effectuées en 1981 et 1982 : elles ont conduit à des analyses très voisines. Dans un travail précédent, nous avons examiné le contenu en alcaloïdes des écorces de tronc et de racines ainsi que des graines de *Pterotaberna inconspicua* ⁽²⁾. Le contenu en alcaloïdes des feuilles de cette espèce nous avait paru trop faible et trop complexe pour justifier une étude poussée. La présence d'un alcaloïde majoritaire dans les feuilles de *Pterotaberna inconspicua*: la méthuénine, signalée récemment ⁽³⁾ concerne vraisemblablement les tiges feuillées de cette espèce. Cet alcaloïde a été trouvé par nous dans les tiges. Cette interprétation a été confirmée par une répétition de l'extraction des feuilles; aucun alcaloïde n'a été isolé à l'état pur, mais l'absence de méthuénine a été vérifiée par ccm dans plusieurs systèmes de solvant.

Les racines, les feuilles et les graines de *Tabernanthe iboga* ont fait l'objet de nombreux travaux de Goutarel ^(4,5,6), de Taylor ^(7,8) et de leurs collaborateurs qui ont montré la présence d'alcaloïdes du type Iboga.

Seules les écorces de racines et de tronc de *Daturicarpa elliptica* ont été étudiées par Cavé ⁽⁹⁾. Afin de disposer de données homogènes sur les quatre espèces, nous avons effectué une extraction rapide de ses graines et de ses feuilles afin de repérer les principaux alcaloïdes présents. Les résultats de ces diverses extractions figurent dans le Tableau suivant.

Graines

Espèces	<i>T. iboga</i>	<i>P. inconspicua</i>	<i>D. elliptica</i>	Hybride F ₁
alcaloïdes	coronaridine <u>1</u>	voacangine <u>2</u>	voacangine <u>2</u>	coronaridine <u>1</u> voacangine <u>2</u>
	voaphylline <u>3</u>			
teneur (g/kg)	6,2	10,3	7	6,5

Feuilles

Espèces	<i>T. oboga</i>	<i>P. inconspicua</i>	<i>D. elliptica</i>	Hybride F ₁
alcaloïdes communs à plusieurs espèces	ibogamine <u>5</u>	alcaloïdes absents de <i>P. inconspicua</i> (ccm)	* pandoline <u>7</u> épipandoline <u>8</u> pandine <u>9</u> coronaridine <u>1</u>	ibogamine **5 pandoline <u>7</u> épipandoline <u>8</u> pandine <u>9</u> coronaridine <u>1</u>
alcaloïdes divers	ibophyllidine <u>13</u> iboxyphylline <u>14</u>		tabersonine <u>11</u> vincadiformine <u>12</u>	heynéanine <u>4</u> isovoacangine <u>6</u> hydroxy-10 méthoxy-11 tabersonine <u>10</u>

* alcaloïdes repérés en ccm

** alcaloïdes isolés à l'état pur.

Dans les graines de l'hybride, nous avons constaté la présence d'un mélange de coronaridine 1 (40%) et de son analogue méthoxylé sur le C-10, la voacangine 2(60%). Dans les graines de *Daturicarpa elliptica*, nous n'avons trouvé que la voacangine 2. Ces alcaloïdes ont été identifiés par comparaison avec des échantillons authentiques. Comme les graines de *P. inconspicua* ne contiennent que de la voacangine 2 et celle de *T. iboga* que de la coronaridine 1 et de la voaphylline 3, aucune parenté entre l'hybride et les autres espèces ne peut être démontrée de façon convaincante par l'étude des graines.

Les feuilles de l'hybride renferment un mélange plus complet d'alcaloïdes; de ce mélange ont été isolés à l'état pur : la coronaridine 1, l'heynéanine 4 (hydroxy-19 coronaridine), l'ibogamine 5 (descarbométhoxycoronaridine), l'isovoacangine 6 (méthoxy-11 coronaridine), ainsi que trois autres alcaloïdes, plus rares, du type iboga: la pandoline 7, l'épi-20 pandoline 8 et la pandine 9. Tous ces composés ont été identifiés à partir de leurs spectres et par comparaison avec des échantillons authentiques. Un huitième alcaloïde de poids moléculaire 382 a également été isolé; ses constantes spectrales sont identiques à celles de l'alcaloïde H d'*Hazunta modesta* var. *methuenii*⁽¹⁰⁾ et de l'hydroxy-10 méthoxy-11 tabersonine-10 de *Hazunta modesta* var. *modesta*⁽¹¹⁾. A notre connaissance, cet alcaloïde est le seul des alcaloïdes à chromophore β-anilinoacrylique à ne pas être révélé en bleu par le réactif cérique⁽¹²⁾; il apparaît en rouge.

Les alcaloïdes de feuilles de *Daturicarpa elliptica* ont été extraits par nous, mais aucun alcaloïde n'a été isolé à l'état pur. Les alcaloïdes suivants ont cependant pu être "repérés" en ccm : la pandoline 7, l'épipandoline 8, la pandine 9, la coronaridine 1, ainsi que la tabersonine 11 et la vincadiformine 12. Alors que les quatre premiers alcaloïdes 1, 7, 8 et 9 appartiennent aussi à l'hybride, il est bon

de noter que le composé 10 de l'hybride est une forme oxydée de 11 ou de 12. Les alcaloïdes des feuilles de *T. iboga* ont été étudiées par R. Goutarel et ses collaborateurs : ils ont isolé l'ibogamine 5 - également présente dans l'hybride - ainsi que des alcaloïdes du genre *iboga* modifiés, l'ibophyllidine 13 et l'iboxyphylline 14. Seules des traces d'alcaloïdes ont été extraites des feuilles de *P. inconspicua*; aucun des alcaloïdes susmentionnés n'a été repéré en ccm. Un seul alcaloïde, instable, a été isolé en infimes quantités et sa structure n'a pu être déterminée. La présence d'ibogamine dans les feuilles de *T. iboga* ne permet pas non plus de conclure au sujet des parentés entre espèces car l'ibogamine peut provenir d'une descarbométhoxylation facile de la coronaridine.

Si la parenté entre l'hybride et *D. elliptica* ne souffre aucun doute d'après l'analyse des alcaloïdes de leurs feuilles et de leurs graines, il est difficile d'établir un lien de parenté avec *T. iboga* ou *P. inconspicua*. Nous projetons, néanmoins, de poursuivre ces travaux par l'étude des générations à venir de l'hybride ainsi que des autres parties de la plante.

DISCUSSION DES RESULTATS

L'étude morphologique des fruits portés par la seconde génération d'hybrides de Kisantu désigne pour ascendants aux plantes : *Daturiocarpa elliptica* x *Pterotaberna inconspicua*.

L'analyse du contenu alcaloïdique des graines et des feuilles de la première génération d'hybride s'accorderait mieux de l'éventualité d'un croisement *Daturiocarpa elliptica* x *Tabernanthe iboga*.

Ainsi, pour l'explication d'un même phénomène, nous parvenons, selon le mode d'investigation, à des conclusions qui portent un élément de contradiction. Nous nous en tiendrons à ces faits. L'identité certaine des parents de l'hybride de Kisantu ne manquera pas de venir des essais de croisement contrôlés que nous allons tenter. L'hybride renferme de l'heynéanine, de l'isovoacangine, de l'hydroxy-10 méthoxy-11 tabersonine, trois alcaloïdes absents chez les parents. L'hybridation d'Apocynaceae pourrait se révéler une technique nouvelle apte à mettre en évidence des affinités entre ces végétaux, mais encore susceptible de donner naissance à des plantes à teneur accrue en alcaloïdes ou en possession de composés distincts de ceux rencontrés chez les parents.

PARTIE EXPERIMENTALE

Extraction des feuilles de l'hybride : la poudre de feuilles (33,5 g) est humectée par 22 ml d'ammoniaque au 1/2 et lixiviée par de l'éther après macération durant une nuit. La phase étherée est épuisée par de l' H_2SO_4 dilué à 2 %; la phase aqueuse est extraite par le chloroforme; après séchage et évaporation, on obtient 382 mg d'alcaloïdes totaux (Rdt 10,7/Kg) qui sont fractionnés sur 20 g de silice. L'ordre d'élution des alcaloïdes est : coronaridine 1, isovoacangine 6, pandoline 7, hydroxy-10 méthoxy-11 tabersonine 10, heynéanine 4, épipandoline 8 et pandine 9.

REMERCIEMENTS

Le matériel végétal a été récolté dans le cadre du projet "Etude Phytochimique de la Flore du Zaïre" subventionné par le Ministère de la Coopération au Développement de Belgique auquel nous exprimons notre gratitude.

Nous avons prélevé du matériel végétal sur l'hybride entretenu au Jardin Botanique de Kisantu grâce à l'obligeance de son Directeur, le Citoyen Nsimundele; nous tenons à le remercier ici.

Les dessins sont de Mademoiselle Carole Le Jeune (Kinshasa). Nous l'en remercions très sincèrement.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) H. HÜRLIMANN, Ber.Schw.Bot.Ges., 67, 1957, 187-505.
- (2) A.M. MORFAUX, T. MULAMBA, B. RICHARD, C. DELAUDE, G. MASSIOT et L. LE MEN-OLIVIER, Phytochemistry, 21, 1982, 1767.
- (3) P. BAKANA, R.A. DOMMISSE, E. ESMANS, F. ALDERWEIRELDT, A.J. VLIETINCK, G.M. LAEKEMAN, A.G. HERMAN, Planta Medica, 45, 1982, 162, P36.
- (4) R. GOUTAREL, F. PERCHERON, J. WOHLFAHRT, M.-M. JANOT, C.R.Acad.Sci., 246, 1958, 279.
- (5) R. GOUTAREL, J. POISSON, G. CROQUELOIS, Y. ROLLAND et C. MIET, Ann.Pharm.Fr., 32, 1976, 2539.
- (6) F. KHUONG HUU, M. CESARIO, J. GUILHEM et R. GOUTAREL, Tetrahedron, 32, 1976, 2539.
- (7) W.I. TAYLOR et R. GOUTAREL, J.Org.Chem., 30, 1965, 309.
- (8) D.F. DICKEL, C.L. HOLDEN, R.C. MAXFIELD, L.E. PASZEK et W.I. TAYLOR, J.Amer. Chem.Soc., 80, 1958, 123.
- (9) J. BRUNETON, A. BOUQUET et A. CAVE, Plant.Med.Phytother., 10, 1976, 20.
- (10) A.M. BUI, M.-M. DEBRAY, P. BOITEAU et P. POTIER, Phytochemistry, 16, 1977, 703.
- (11) M. URREA, Thèse, Paris 6, 28.10.1980.
- (12) N.R. FARNWORTH, R.N. BLOMSTER, D. DAMRATOSKI, W.A. MEER et L.V. CAMMARATO, Lloydia, 27, 1964, 302.