

CONTRIBUTION À L'ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE DES OLACACEAE. ANALYSE DE LA SAPONINE D'OLAX OBTUSIFOLIA DE WILD

par C. DELAUDE et R. HULS

SUMMARY

Perchloric acid hydrolysis of the saponin from the roots bark of *Olax obtusifolia* liberates : oleanolic acid, hederagenin, machaeric acid, glucose, xylose, rhamnose and glucuronic acid.

Les *Olax* sont des arbustes de petite taille. Le genre comprend quelque cinquante-cinq espèces trouvées, pour la plupart, dans les régions tropicales d'Afrique et d'Asie; quelques-unes se rencontrent à Madagascar et en Australie. Au Zaïre, sept espèces sont représentées.

Lors d'études précédentes, nous avons successivement montré que cinq des représentants zaïrois du genre *Olax* : *O. subscorpioïdea*, *O. wildemanii*, *O. gambecola*, *O. angustifolia* et *O. latifolia*, contenaient en l'écorce de leurs racines une saponine qui, à l'hydrolyse, libère de l'acide oléanolique, du glucose, du xylose et du rhamnose [1] [2] [3] [4] [5].

D'autre part, Gabetta et al. [6] ont montré que les racines d'un *Olax* mozambicain, *O. dissitiflora*, contiennent de la saponine qui, à l'hydrolyse, libère de l'acide oléanolique et une prosapogénine qui en dérive : le 3-O-glucoronide d'acide oléanolique, mais encore de l'hédéragénine et de l'acide 21-épi-machaerinique.

En prolongement de ces travaux, nous nous intéressons à la saponine d'*Olax obtusifolia* De Wild.

Olax obtusifolia est une plante de la partie occidentale de la Zambie et du Haut Shaba (Zaïre). Nous l'avons rencontrée aux alentours de Lubumbashi, à proximité de la Station INERA de la Kipopo. Le matériel végétal récolté est authentifié par l'exsiccatum d'herbier H. Breyne 3678 déposé au Jardin Botanique National de Bruxelles.

LA SAPONINE D'OLAX OBTUSIFOLIA

Nous avons isolé la saponine contenue en l'écorce des racines d'*O. obtusifolia*. Elle se présente sous forme d'une poudre blanche amorphe. Le rendement de l'opération est de 23,5 grammes de saponine par kilo d'écorces. Après hydrolyse perchlorique de la saponine, nous avons isolé le précipité de génine formé et avons réalisé une mise en solution pyridinique des sucres libérés. L'analyse chromatographique montre que le traitement d'hydrolyse libère du glucose, du xylose, du rham-

nose et de l'acide glucuronique. Après acétylation, le mélange de génines a été chromatographié sur colonne de silice. On obtient, dans l'ordre de leur élution, trois produits nommés A, B et C.

Identification de la génine acétylée A.

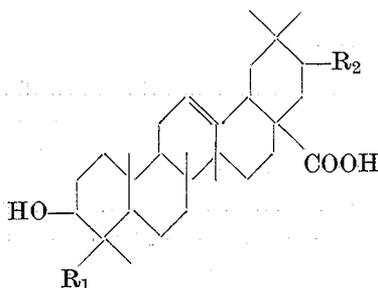
A donne naissance, en spectrométrie de masse, à un ion moléculaire à $m/e = 498$ compatible avec une formule brute en $C_{32}H_{50}O_4$. Des pics à 453 et 438 unités de masse indiquent la présence, dans la molécule, d'un groupement carboxylique et d'un groupement acétyle. Les pics à 248, 203 et 133 unités de masse sont caractéristiques d'un produit dérivé de la β -amyrine substituée en 28 par une fonction carboxylique. Il ressort que A doit être de l'acide oléanolique. L'analyse du spectre de H^1 RMN et la mesure de F et (α)_D le confirment.

Identification de la génine acétylée B.

Les pics principaux du spectre de masse de B se situent à 133, 203, 248, 436, 496, 510 et 556 unités de masse. Il en est de même sur le spectre de masse du diacétate d'hédéragénine. Par comparaison directe des constantes physiques et spectrales de B avec celles d'un échantillon authentique de diacétate d'hédéragénine, nous avons conclu à l'identité de ces deux produits. L'un et l'autre ont même F, (α)_D et spectre de H^1 RMN.

Identification de la génine acétylée C.

C répond à une formule brute en $C_{32}H_{48}O_5$ déterminée par spectrométrie de masse. La présence sur le spectre d'ions à $m/e = 484$ (M — 28), 516 (M — 46) et 452 (M — 60) témoigne, respectivement, de l'existence, dans la molécule d'un groupement carbonyle, d'un groupement carboxylique et d'un groupement acétyle. Les ions de masse 262, 217, 189 et 133 s'accordent à montrer que le composé C est un dérivé de la β -amyrine substituée en 28 par un groupement carboxylique en possession d'une fonction cétonique située en l'anneau D ou E. Enfin, le spectre de masse de C présente de très nettes analogies avec celui relevé par Djerassi et coll. [7] pour l'ester méthylique de l'acide machaérique. L'analyse du spectre de H^1 RMN de C confirme cette identité; en effet, on observe sur le spectre les signaux caractéristiques suivants: $\delta = 5,42$ ppm (12 — H vinylique); 4,48 ppm (3 α — H); 3,30 ppm (18 — H); 2,58 ppm (22 α — H; 22 β — H); 2,06 ppm (3 β — OAc), 1,28; 1,12; 1,04; 0,88; 0,86; 0,75 ppm (7 CH₃)



	R ₁	R ₂
Acide oléanolique	H	H
Hédéragénine	OH	H
Acide machaérique	H	O

DISCUSSION DES RÉSULTATS

Nous avons établi que la saponine d'*Olax obtusifolia* libère, lors de l'hydrolyse perchlorique, de l'acide oléanolique, de l'hédéragénine, de l'acide machaerique, ainsi que du glucose, du xylose, du rhamnose et de l'acide glucuronique.

Les résultats acquis s'accordent à montrer, chez les espèces du genre *Olax*, la présence prépondérante d'une saponine qui dérive de l'acide oléanolique et suggèrent la coexistence, chez ces végétaux, de saponines qui dérivent de l'acide oléanolique, de l'hédéragénine et de l'acide machaerique ou 21-épi-machaerinique.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Extraction et purification de la saponine.

1,37 kilo d'écorces de racines d'*Olax obtusifolia* ont macéré sous méthanol à 80 %. L'extrait obtenu après ébullition à reflux durant trois heures est concentré et porté à sec. Le résidu (275 g) est dissous dans cinq fois son poids de méthanol. La solution méthanolique filtrée est noyée dans un volume quintuple d'éther sulfurique. Le précipité formé est isolé, séché, redissous dans de l'eau et soumis à la dialyse durant quatre jours. Le contenu des cellules à dialyse est porté à sec. Le résidu est repris par du méthanol. La solution méthanolique est décolorée par traitement à chaud par du charbon actif. L'adsorbant est éliminé par filtration. La saponine est précipitée par adjonction au filtrat d'un volume quintuple d'éther sulfurique. On recueille 32 g de saponine.

Isolément des génines libérées à l'hydrolyse perchlorique.

3 g de saponine sont hydrolysés par 100 ml d'acide perchlorique à 3,5 % en tube scellé à l'étuve à 140°C, durant trois heures. Le précipité de génines est séparé par filtration, séché (1,2 g) et acétylé par 30 ml du mélange Ac_2O /pyridine, pendant 48 heures à température ambiante. Après récupération, le mélange de génines acétylées est séparé par chromatographie sur colonne de gel de silice « Woelm » pour colonne sèche (éluant benzène/acétate d'éthyle 8/1). Trois substances ont été isolées : acide oléanolique (800 mg), hédéragénine (26 mg) et acide machaerique (21 mg).

Identification des sucres.

On a réalisé une mise en solution pyridinique des sucres libérés à l'hydrolyse. Le glucose, le xylose et le rhamnose ont été identifiés par chromatographie sur papier Whatman n° 1, préalablement saturé par AcOEt /pyridine/eau (8/2/1). L'élu-tion (18 heures) était assurée par le même mélange de solvants. Révélation par le phtalate d'aniline. L'acide glucuronique a été identifié par chromatographie sur couche mince, sur plaque finie de silicagel 60F254 de « Merck » développée par benzène/acide acétique/méthanol (2/2/4). Révélation par naphto-résorcinol-acide trichloracétique.

REMERCIEMENTS

Le matériel végétal analysé a été récolté dans le cadre des missions pour l'étude phytochimique de la flore du Zaïre. Les auteurs expriment leur gratitude au Ministère de la Coopération au Développement de Belgique qui a subventionné ces missions.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] M. DAVREUX, C. DELAUDE et R. HULS, *Bull. Soc. Roy. Sci. Liège*, **40**, n° 9-10 (1972), 493-497.
- [2] M. DAVREUX et C. DELAUDE, *Bull. Soc. Roy. Sci. Liège*, **41**, n° 9-10 (1972), 567-569.
- [3] M. DAVREUX et C. DELAUDE, *Bull. Soc. Roy. Sci. Liège*, **41**, n° 9-10 (1972), 570-572.
- [4] C. DELAUDE et M. DAVREUX, *Bull. Soc. Roy. Sci. Liège*, **42**, n° 1-2 (1973), 70-72.
- [5] C. DELAUDE et M. DAVREUX, *Bull. Soc. Roy. Sci. Liège*, **42**, n° 5-6 (1973), 241-244.
- [6] B. GABETTA, E. M. MARTINELL et G. MUSTICH, *Fitoterapia*, **45**, n° 1 (1974), 3-5.
- [7] H. BUDZIKIEWICZ, J. M. WILSON et C. DJERASSI, *J. Am. Chem. Soc.*, **85** (1963), 3698.

*Institut de Chimie
Université de Liège
Sart-Tilman
B-4000 Liège (Belgique)*